

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РСФСР
СВЕРДЛОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ОХРАНЫ
МАТЕРИНСТВА И МЛАДЕНЧЕСТВА

Ю.В. ГОЛИКОВ

ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ЛЕГКИХ ПРИ ГИПОКСИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ
(экспериментальный и секционный материал)

I4764 - патологическая анатомия

Д и с с е р т а ц и я
на соискание ученой степени кандидата
медицинских наук

Научный руководитель
доктор медицинских наук
профессор Л.И. ЧЕРНЫШЕВА

Свердловск
1969

О Г Л А В Л Е Н И Е

стр.

В В Е Д Е Н И Е	4
---------------------------	---

Глава I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1. Использование электронной микроскопии в патолого-анатомических исследованиях.	8
2. Электронномикроскопическое исследование легких лабораторных животных и человека.	13
Ультраструктура легких плодов, новорожденных и взрослых животных.	13
Изменение ультраструктуры легких при острой гипоксии.	29
3. З а к л ю ч е н и е	35

Глава II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Характеристика экспериментального материала	38
2. Характеристика секционного материала	40
3. Подготовка материала для электронномикроскопического исследования	41
4. Люминесцентная микроскопия как предварительный этап электронномикроскопического исследования.	47
5. Ультрамикротомирование и микроскопирование .	52

Глава III. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Ультраструктура легких крысят контрольной группы.	59
2. Динамика посмертных изменений в легких новорожденных крысят и плодов человека.	69
3. Субмикроскопические изменения в легких плодов и новорожденных крысят при различных видах острой гипоксии.	124

стр.

Изменения в легких при внутриутробной гипоксии.	124
Изменения в легких при острой гипоксии, вызванной путем помещения крысят в замкнутое пространство.	133
4. Динамика посмертных изменений в легких крысят, предварительно перенесших острую гипоксию различной продолжительности	163
5. В ы к л ю ч е н и е	174
Глава IV. УЛЬТРАСТРУКТУРА ЛЕГКИХ ПЛОДОВ ЧЕЛОВЕКА И ЛЕГКИХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ, ПОГИБШИХ В АСФИКСИИ	177
Глава V ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ	209
ВЫВОДЫ.	227
УКАЗАТЕЛЬ ЛИТЕРАТУРЫ	231

В В Е Д Е Н И Е

Одной из главных задач Советской медицинской науки и практического здравоохранения является борьба за дальнейшее снижение перинатальной смертности новорожденных.

Среди причин перинатальной гибели детей одно из первых мест занимает асфиксия, которая наблюдается в среднем у 4-6,5% общего числа родившихся (А.М.Агаранов, 1950; Р.Г.Бакиева, 1955; И.С.Легенченко, 1957; Л.С.Персианинов, 1957, 1961; В.И.Бодяжина, 1963; В.И.Агнисенко, 1966).

В световой микроскопии исследованию легких у новорожденных детей при гипоксических состояниях посвящено значительное количество работ (В.Н.Шिशкова, 1962; Д.Б.Векслер, 1962; О.Я.Кауфман, 1963; Л.М.Крылов, 1965; А.Ф.Сорокин, 1965; М.В.Полуяхтова, А.Н.Сержанина и Г.Ф.Пучков, 1966; Р.Н.Микельсаар, 1968; *Uzoniowski*, 1957; *Greg* и *Buzustein*, 1961; *Lauwezyms*, 1965, 1968; *Hollo*, 1966 и др.).

Однако, несмотря на большие достоинства этих исследований, позволивших глубже понять механизм возникновения и развития асфитических состояний, многие стороны тонких структурных изменений в легких новорожденных при гипоксических состояниях остаются невыясненными, так как разрешение обычного микроскопа не позволяет чётко наблюдать структуру, размеры которой меньше 0,2 микрона.

Одним из методов, позволяющих более глубоко и детально изучать структуру клеток и тканей как в норме, так и при различных патологических состояниях, является электронная микроскопия. Тем не менее, необходимо подчеркнуть, что электронная микроскопия, как по данным отечественной, так и зарубежной литературы, до сих

пор почти не используется в практике патолого-анатомических исследований.

Одной из причин, тормозящих широкое использование электронной микроскопии в патологических исследованиях, является то обстоятельство, что электронный микроскоп выявляет в секционном материале глубокие рано возникающие посмертные изменения структуры клеток и тканей. Характер изменений не позволяет сказать, являются ли они следствием патологического процесса или результатом посмертного аутолиза. Чтобы предотвратить развитие аутолиза в секционном материале, последний необходимо исследовать как можно быстрее после смерти.

Однако, в вопросе о том, в какие максимально возможные сроки после смерти ещё можно получить достоверные результаты об ультраструктуре клеток и тканей, среди исследователей нет единого мнения.

Одни из них считают, что фиксация тканей для их изучения в электронном микроскопе должна производиться не позднее 2-15 минут после смерти (*Sjöstrand*, 1956; *Zeiger*, 1960). Другие допускают возможность полноценного электронномикроскопического исследования тканей животных и человека в течение первых 2-7 часов после смерти (*А.И.Струков*, 1967; *Д.С.Саркисов* и *Б.В.Вторин*, 1967; *Bomme*, 1961; *Gzoniowski* и *Biszyskova*, 1962).

Подобная неопределенность во времени взятия экспериментального и секционного материала для целей электронной микроскопии является результатом весьма скудных и отрывочных сведений о характере посмертных изменений ультраструктурной организации тканей человека и животных. Между тем, в ряде исследований, хотя и единичных, выявлена определенная устойчивость внутриклеточных

структур и посмертным изменениям (Д.С.Саркисов и Б.В.Вторин, 1967 В.В.Глаголева и Ю.С.Чеулюн, 1968; *Hibbs* и *Black*, 1963; *Ashwozth* и *Stembbridge*, 1964; *Ito*, 1965).

Однако, следует подчеркнуть, что в приведенных работах данные о характере посмертных изменений получены в основном в тканях и органах экспериментальных животных, ультраструктура которых изменялась только под влиянием развивающихся процессов посмертного аутолиза. В секционном же материале, в случае гибели новорожденных детей от асфиксии, изменение ультраструктур клеток ткани легкого является, не только следствием влияния аутолиза, но и результатом перенесенной асфиксии, то есть фактически, следствием сочетанного воздействия повреждающих моментов. Отсюда вытекает необходимость дифференцировки прижизненных изменений от посмертных. Это можно сделать при изучении и сопоставлении динамики посмертных изменений и изменений при острой гипоксии в экспериментальном и секционном материале. Однако, в доступной отечественной и зарубежной литературе мы не встретили подобных, хотя бы экспериментальных работ.

Поскольку трудности дифференцировки прижизненных изменений от посмертных до сих пор тормозят внедрение электронной микроскопии в практику патолого-анатомических исследований, выявилась необходимость изучения ультраструктурных изменений при аутолизе.

В настоящей работе мы попытались представить электронно-микроскопическую характеристику изменений, происходящих в стенке легочной альвеолы при аутолизе и в условиях острой гипоксии. Основное внимание при изложении материала направлено на изменения ультраструктур в клетках альвеолярной и эндотелиальной выстилок и в целом в воздушно-кровеносном барьере легких.

В работе изучены следующие вопросы:

- 1/динамика посмертных изменений в легких новорожденных крысят и плодов человека;
- 2/субмикроскопические изменения в легких плодов и новорожденных крысят при острой гипоксии;
- 3/динамика посмертных изменений в легких крысят, предварительно перенесших острую гипоксию различной продолжительности;
- 4/субмикроскопические изменения в легких новорожденных детей, погибших в асфиксии.

Конечной целью работы было обоснование практических рекомендаций о времени взятия секционного материала для целей электронной микроскопии у новорожденных детей, погибших от асфиксии. При этом учитывалось влияние тяжести преагонального и агонального периодов и посмертных изменений на сохранность ультраструктуры легких.

Мы надеемся, что ознакомление патологов-анатомов с результатами проведенной работы будет способствовать более широкому внедрению электронной микроскопии в практику патогистологических исследований, в частности, при изучении легких новорожденных детей.

ГЛАВА I

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

I. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ В ПАТОЛОГО-АНАТОМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Идея создания электронного микроскопа возникла ещё в 1928г., когда была найдена методика управления электронным лучом (*Ruska, Knoll, Bozzis, 1928*). В 1932г. был сконструирован первый электронный микроскоп и получены первые электронные микрофотографии (*Knoll и Ruska, 1932*).

В электронном микроскопе изображение создаётся не за счёт поглощения света окрашенными участками препарата, как в световом микроскопе, а за счёт различной степени рассеяния электронов при столкновении с атомами и молекулами исследуемого ультрасреза. Следовательно, конечное увеличенное изображение на экране (фото-пластинке) будет сформировано электронами, прошедшими сквозь ультрасрез без соударения с его атомами и молекулами или претерпевшими незначительное отклонение в результате соударений.

Таким образом, яркость свечения экрана (или почернения фотопластинки) будет зависеть от степени рассеяния электронов, а рассеяние будет зависеть от толщины ультрасреза и плотности исследуемой ткани.

Однако, до начала 50-х годов электронный микроскоп практически не использовался для гистологических исследований, так как парафин, целлоидин и другие средства для заливки объектов оказались непригодными для получения срезов толщиной в 0,03 - 0,05 мк.

Это затруднение было преодолено введением для заливки объектов метакрилатов (*Newman et al, 1949*), желатины (*В.Н.Гилёв*), эпоксидных смол (*Glauert, и Glauert, 1958; Finck, 1960; Luft, 1961*).

Параллельно поискам новых сред для заливки шла разработка конструкций ультрамикротомов (*Sjöstrand; Portez a. Blum, 1953; М.И.Дашевский, 1962; и др.*), методик изготовления алмазных (*Fernandez-Moran, 1953*), стеклянных и рубиновых ножей (*Latta u. Hartzmann, 1950; В.А.Боровягин, 1958; В.Ф.Машанский, 1960*), а также улучшение методов фиксации (*Palade; Sjöstrand, 1953; Dalton, 1955; Milloning; Sabatini, 1962; И.Б.Токин и П.Релих, 1965; Tzump, 1966*) и контрастирования ("окрашивание") ультрасрезов солями и окислами тяжёлых металлов (*Watson, 1958; Marinozzi, 1961; Reynolds, 1963; В.П.Гилёв, 1967 и др.*).

За последние годы электронная микроскопия в сочетании с гистохимическими и биохимическими методами всё шире используется для определения локализации ферментов, выявления нуклеиновых кислот, идентификации гликогена и т.д. (*Sedar a. Rosa, 1961; Hazzi a. Chang, 1963; К.С.Митин, 1965 и др.*).

В настоящее время благодаря бурному развитию науки и техники, позволивших изготавливать электронные микроскопы с разрешающей способностью в 8-10 А (0,008-0,010 мк) и ультрамикротомы, дающие возможность получения серийных срезов толщиной в 100-200 А

(0,01-0,02 мк), метод электронной микроскопии всё шире стал использоваться в различных областях медицины. Тем не менее, необходимо подчеркнуть, что электронная микроскопия как по данным отечественной так и зарубежной литературы, до сих пор почти не используется в практике патолого-анатомических исследований.

Одной из причин, тормозящих широкое использование электронной микроскопии в патологических исследованиях, является то обстоятельство, что электронный микроскоп выявляет в секционном материале глубокие рано возникающие посмертные изменения структуры клеток и тканей. Отсюда вытекает требование: использовать материал как можно быстрее после смерти. Однако в вопросе о том, в какие максимально возможные сроки после смерти ещё можно получить достоверные данные об ультраструктуре клеток и тканей, среди исследователей нет единого мнения.

Так, *Rhodin* (1954) в эксперименте показал, что уже через 5 минут после прекращения кровообращения, начинают появляться признаки изменения ультраструктуры клеток различных тканей и органов. *Sjöstrand* (1956) отмечает, что промежуток времени между прекращением кровообращения тканей и установления внутри клеток необходимой концентрации фиксатора (осмиевой кислоты) не должен превышать 5-15 минут. *Zeiger* же (1960) считает, что время между моментом прекращения жизнедеятельности фиксируемого объекта и моментом начала фиксации не должно превышать 2-х минут. Тем не менее, *Bommer* (1961), исследуя лёгкие новорожденных детей при интерстициальной пневмонии, забирал материал между 6 и 14 часами после смерти. По данным *Gzonowski* (1964), ультраструктура печени, лёгких и мышцы сердца новорожденных детей, взятых до 20 минут с момента прекращения основных жизненных функций, близко соответствует ультраструктуре этих органов у новорожден-

ных крысят, зафиксированных немедленно после декапитации.

А.И.Струков (1967) полагает, что для электронномикроскопических исследований тканей от трупа необходимо забирать материал в самые короткие сроки (1-3 часа) после смерти. Д.С.Саркисов и Б.В.Втюрин (1967) изучали ультраструктуру паренхиматозных клеток печени у людей, умерших от ожоговой болезни, через 2-5 часов после смерти больных.

В ряде зарубежных работ, посвященных электронной микроскопии легких новорожденных детей, вообще не конкретизируется время взятия материала. Авторы пишут: "материал забирался сразу же после смерти" (Balis *et al*, 1966; Gronowski, 1964 и др.).

Подобная неопределенность во времени взятия экспериментального и секционного материала для целей электронной микроскопии является результатом весьма скудных и отрывочных сведений о характере посмертных изменений ультраструктурной организации тканей человека и животных.

Sjöstrand и Rhodin (1956) для проверки достоверности получаемых результатов при электронномикроскопическом исследовании изучали ткани, умышленно подвергнутые воздействию условий, неблагоприятных для их сохранения. Они проводили фиксацию материала спустя различные периоды времени после забоя животного - 15 минут до 2 часов. Используя при фиксации растворы с различной молярной концентрацией и различными значениями pH авторы выяснили, что такие факторы вызывают наиболее резкие посмертные изменения в ткани, и потому стали фиксировать ткань *in situ* у живого животного при ненарушенном кровообращении.

Эти результаты послужили, по-видимому, основанием для некоторых исследователей прийти к выводу, что для целей электронной микроскопии фиксировать объекты следует либо живые, либо

тотчас после смерти или, в случае исследования тканей человеческого организма, использовать только биопсийный материал (*Zeiger*, 1960; А.Поликар и Ш.Бо, 1962; А.И.Клембовский, 1964 и др.). Постулируя данное положение, авторы, однако, не подкрепляют его объективными данными, говорящими о характере посмертных изменений в тканях в случаях отсроченной фиксации. Между тем, в ряде исследований, хотя и единичных, выявлена определенная устойчивость внутриклеточных структур к посмертным изменениям.

Hibbs и *Black* (1963), используя фиксирующую смесь по *Mil-lonig* (1961) и заключение в мероглас по методу *Freeman* и *Spruzlock* (1962), в течение 10 часов после декапитации крысы изучали характер аутолитического процесса в миокарде. Они отметили, что через 15 минут выявляется лишь комкование ядерного хроматина и уменьшение количества гликогена, а саркоплазматическая сеть, митохондрии и миофибриллы выглядят почти не измененными. Через 1 час появляются заметные изменения ультраструктуры миофибрилл, но саркоплазма и митохондрии сохраняют почти неизменный вид, вплоть до 10 часов после смерти.

По данным *Ashworth* и *Stembidge* (1964) в аутопсийном материале (почки, печень), зафиксированном в формалине и четырёхокиси осмия до 2 часов после смерти, ультраструктура тканей в большинстве случаев хорошо сохраняется и лишь спустя 2-4 часа отмечается набухание и вакуолизация митохондрий, локальные разрывы плазматической мембраны клеток.

Скок с соавторами (1965) обнаружили, что в эпителиальных клетках почечных клубочков митохондрии незначительно набухают и теряют плотность матрикса после 1 часа инкубации. После 24 часов ещё встречаются митохондрии, которые сохранили внутренние мембраны.

Ещё на большую стабильность мембранных компонентов клеток после смерти указывает Ито (1965), по данным которого типичная ультраструктура митохондрий паренхиматозных клеток печени крысы сохраняется спустя 24 часа после смерти, хотя и в сильно нарушенном виде. И лишь спустя 48 часов митохондрии полностью исчезают.

А.И.Струков (1967), характеризуя посмертные изменения в тканях и органах человека отмечает, что спустя 12-20 часов после смерти митохондрии набухают, эндоплазматическая сеть становится нечёткой, лизосомы теряют свою оболочку.

По данным В.В.Глаголевой и Ю.С.Чечулина (1968) ультраструктурная организация миокардиальных клеток человеческих сердец, взятых для исследования через 6-7 часов после смерти, по сохранности не отличается от ультраструктуры миокарда других млекопитающих, у которых ткань миокарда бралась для исследования через 1-2 минуты после забоя животного.

Результаты вышеперечисленных исследований, выполненных с использованием различных методических приёмов, выявляют весьма выраженную стабильность клеточных элементов к воздействию посмертных изменений. Как справедливо отмечает Ито (1965), мембранные компоненты многих клеток обладают удивительной, незамеченной ранее морфологической устойчивостью.

Однако, следует подчеркнуть, что в приведенных работах данные о характере посмертных изменений получены в основном в тканях и органах экспериментальных животных, ультраструктура которых изменялась только под влиянием развивающихся процессов посмертного аутолиза. В секционном же материале, в случае гибели новорожденных детей от асфиксии, изменение ультраструктур клеток ткани легкого является не только следствием влияния аутолиза, но и результатом перенесенной асфиксии, то есть, фактически, следствием сочетанного воздействия повреждающих моментов. Отсюда вытекает

необходимость дифференцировки прижизненных изменений от посмертных. Это можно сделать при изучении и сопоставлении динамики посмертных изменений и изменений при острой гипоксии в экспериментальном и секционном материале. Однако в доступной отечественной и зарубежной литературе мы не встретили подобных, хотя бы экспериментальных работ.

ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЁГКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛО- ВЕКА

В соответствии с задачами настоящего исследования в обзор работ, посвященных субмикроскопическому изучению легких плодов и новорожденных лабораторных животных и человека, включены только те, которые имеют непосредственное отношение к ультраструктуре альвеолярной выстилки и воздушно-кровеносного барьера в норме и при острой гипоксии.

Кратко освещены вопросы ультраструктуры клеток трахео-бронхиального эпителия, кровеносных и лимфатических сосудов.

В обзоре литературы соблюдена хронологическая последовательность изложения материала. Это даёт возможность критически сопоставить и оценить выводы разных авторов, изучавших один и тот же вопрос, но пользовавшихся различными (или одинаковыми) технико-методическими приёмами, которые с каждым годом совершенствуются, благодаря быстрому прогрессу электронной микроскопии.

Ультраструктура легких плодов, новорожденных и взрослых животных

Сведения об ультраструктуре легких плодов и новорожденных животных немногочисленны и не систематизированы. Они носят характер отдельных сообщений (*Gzoniowski и Djaczenko*, 1958; *Schulz*, 1958, 1959; *Campiche*, 1960; *Kikkawa et al.*, 1965; *Leeson и Leeson*, 1966 и др.).

Groniowski и *Djaczenco* (1958), исследуя легкие здорового плода крысы, установили, что ультраструктура клеток выстилки альвеолярных ходов отличается от таковой в клетках, выстилающих выступы будущих альвеол. Различия отмечены в эндоплазматическом ретикулуме, в степени вакуолизации цитоплазмы клеток, в наличии липидных телец и в изменении митохондрий. По мнению авторов, указанные различия, возможно, связаны с фетальной функцией легких, в частности с всасыванием амниотической жидкости, заполняющей альвеолярные ходы.

Schulz (1958, 1959) изучал ультраструктурные особенности митохондрий и пластинчатых включений в альвеолярных клетках у плодов и новорожденных крысят. По его мнению, пластинчатые осmioфильные включения в больших альвеолярных клетках представляют собой преобразованные митохондрии.

Kikkawa et al (1965), исследуя лёгкие плодов у овец, обнаружил, что с появлением пластинчатых включений в альвеолярных клетках типа II появляется нормальная поверхностная активность легочных экстрактов. На основании полученных данных автор приходит к выводу, что альвеолярные клетки типа II обладают экскреторной функцией: к концу беременности у плода пластинчатые включения появляются в просвете альвеол, альвеолярных ходов и терминальных бронхов.

Leeson и *Leeson* (1966), исследуя лёгкие крысиных плодов в предполагаемый день родов, обнаружили в просвете альвеол и альвеолярных ходов скопление пластинчатых включений и связанный с ними мембранозно-сетчатый материал. Этот материал по внешнему виду напоминает фосфолипидные мембраны (*Stoeckenius*, 1962) и происходит, как полагают авторы, из пластинчатых включений.

Узкая направленность и фрагментарность экспериментальных исследований ультраструктуры лёгких плодов и новорожденных животных не дают представления о многих деталях субмикроскопического строения лёгких. Ввиду недостаточной подробной освещенности в отечественной литературе вопросов субмикроскопического строения лёгких лабораторных животных целесообразно изложить данные литературы об ультраструктуре клеток альвеолярной выстилки и в целом воздушно-кровеносного барьера легких взрослых крыс и других лабораторных животных.

В просвете альвеол нормальных лёгких млекопитающих определяется три вида клеток: малые, большие и свободные клетки. Малые клетки или клетки типа I (*Harzer*, 1956; *Policard et al*, 1957) или клетки типа A (*Low*, 1953; *Hizomoto* 1958; *Киккава* с соавт., 1968) обладают характерной особенностью: тонкий (0,3-0,5 мк) слой цитоплазмы, окружающий круглой формы ядро и содержащий митохондрии и элементы эндоплазматической сети, переходит в чрезвычайно тонкий пластинчатый отросток. Отросток покрывает выступающий в просвет альвеолы капилляр, доходит до соседних альвеолярных клеток, образуя тем самым непрерывность альвеолярной выстилки, которую впервые описал под электронным микроскопом *Low* (1953). Данные *Low* были подтверждены многочисленными авторами при исследовании легких морских свинок, мышей, кроликов, собак и других млекопитающих (*Batzmann a. Knoop*, 1956; *Schulz*, 1957, 1958; *Reidbord a. Spitz*, 1966; А.К.Кранчев, 1966; Х.С.Нугманова и А.Э.Шкутин, 1967; В.Ф.Салов, 1967; Р.С.Морозова и Н.И.Морохова, 1968 и др.).

Большие альвеолярные клетки или клетки типа II (типа В) за последние годы привлекли внимание не только электронных микроскопистов, но и биохимиков и патофизиологов, так как по современным представлениям предполагается, что они

могут продуцировать высокомолекулярное поверхностно-активное вещество, способное изменять поверхностное натяжение на стенках альвеол (*Woodside и Dalton, 1958; Buckingham и Avery 1962; Balis с соавторами, 1966; Е.Н.Нестеров, 1967 и др.*). В этой связи представляется целесообразным рассмотреть ультраструктуру клетки подробнее, а также показать на примере этих клеток ультраструктурные особенности мембранных систем, чтобы при последующем описании легких новорожденных детей не касаться общих закономерностей субмикроскопической организации клеток животного организма.

Альвеолярные клетки типа II-го овальной или призматической формы размером 10-15 мк x 25-35 мк расположены на базальной мембране, которой и отделяются от стромы межальвеолярной перегородки (*Schlipköter, 1954; Kazzer 1956; Policard et al 1959*). Боковые части этих клеток прикрываются пластинчатыми отростками клеток типа I, но в месте контакта не происходит слияния цитоплазмы соседних клеток, а всегда определяются межклеточные границы, образованные плазматическими оболочками клеток, разделенных весьма узким пространством, которое общается с просветом альвеол (*Policard et al, 1959, 1962*).

Свободная поверхность данных клеток образует цитоплазматические выросты типа псевдоподий, получивших название микроворсинок (*Kazzer, 1956*). Микроворсинки, возможно, осуществляют секреторную или всасывающую функцию (*Schulz, 1959*). С увеличением числа микроворсинок, поверхность альвеолярных стенок увеличивается. Однако, как отмечает *Schulz*, это увеличение поверхности не означает, что происходит увеличение респираторной поверхности, так как у пластинчатых отростков клеток типа I, покрывающих капиллярную стенку, микроворсинки не видны.

Ядро сферической формы, нуклеоплазма тонко гранулярна

с плотными глыбками хроматина и мелким ядрышком. В двойной ядерной оболочке определяются поры, через которые, как полагают, происходит не только сообщение ядра с цитоплазмой, но и прямое проникновение веществ из внеклеточной среды в ядро через систему канальцев эндоплазматической сети, минуя основное вещество клетки (Porter, 1960; Mizsky и Osawa, 1961; И.А.Алов с соавт. 1966; Э.де Робертис и А.де Иральди, 1967; И.Б.Райков, 1968).

Э н д о п л а з м а т и ч е с к а я с е т ь или эндоплазматический ретикулум (Palade, 1954; Портер, 1963) представлена двумя нерезко разграниченными типами: везикулярный профиль с пузырьками круглой или овальной формы с плотной гладкой мембраной и система канальцев, к наружной поверхности которых прикреплены рибосомы (гранулы Паладе). Рибосомы разбросаны также между канальцев эндоплазматической сети.

Р и б о с о м ы - рибонуклеопротеидные гранулы - это плотные сферические гранулы 150-300А в диаметре, включающие в себя равное количество РНК и белков (И.А.Алов, и др., 1966). С рибосомами связывают внутриклеточный синтез белка, однако, как показывают исследования последних лет (Питерман, 1967 и др.), синтез белка происходит не в отдельных рибосомах, а в их комплексах - полирибосомах, среди которых различают димеры, тримеры, тетрамеры и т.д. Полагают также, что рибосомы служат центрами образования ферментов (Де Дюв, 1964).

М и т о х о н д р и и сферической или чаще удлинённой формы длиной 0,1-0,6 мк имеют типичную ультраструктуру: наружная оболочка состоит из двух тёмных осмиофильных слоёв, разделённых светлым промежутком, а внутренняя оболочка образует необильные поперечно или косо ориентированные к продольной оси складки - митохондриотические кристы (Palade, 1953, 1956). Внутреннее пространство между кристами заполнено гомогенным веществом - ма-

триксом, которое плотнее, чем окружающая митохондрии цитоплазма. Использование высокой разрешающей способности современных электронных микроскопов позволило выявить (после фиксации марганцовокислым калием) пятислойную структуру митохондриальных мембран: три тёмных слоя разделяются двумя светлыми слоями (Шёстранд, 1963, 1965 и др.).

Использование же метода негативного контрастирования в сочетании с высоким разрешением позволило обнаружить на внутренних мембранах митохондрий особые сферические тельца - "элементарные частицы" (*Fernandez - Moran*, 1962; *Stoeckenius*, 1963 и др.). Считают, что в этих частицах сконцентрированы ферменты электронно-транспортной цепи (Грин, 1962, 1964 и др.).

Claude (1946) назвал митохондрии "силовыми станциями" клетки. Многочисленные последующие исследования подтвердили правильность этого определения, так как благодаря содержанию ферментов системы переноса электронов, цикла трикарбоновых кислот и фосфорилирования, митохондрии действительно служат основной энергетической станцией клетки (И.А.Алов с соавт., 1966; А.Ленинджер, 1966; Д.Харрис с соавт., 1967). Были выявлены также различные "побочные" функции митохондрий, такие как участие в синтезе жирных кислот и фосфолипидов (М.Д.Гроздова, 1967) и белков (*Roodyn*, 1962).

"П л а с т и н ч а т ы е в к л ю ч е н и я" - это округлые или овальные образования размером от 0,4 до 1,5 мк, не имеющие однородной структуры и состоящие из пластинок, которые анастомозируют между собой или имеют вид концентрически расположенных пластинок. Они рассматриваются как специфический органоид, свойственный только альвеолярным клеткам типа II (*Kazze*, 1956; *Campiche*, 1960; *Bensch*, 1964; *Kikkawa*, 1965; *Leeson*, 1966).

Первый описал эти включения *Schlipkötter* (1954). Позднее

они были обнаружены у большинства млекопитающих и описывались как цитозомы (*Schulz*, 1958), "характерные тельца" (*Woodside a. Dalton*, 1958), пластинчатые включения" (*Campiche*, 1960).

Неопределенность в терминологии являлась отражением противоречивых мнений о происхождении и значении этих включений. Одни авторы рассматривают их как пластинчато преобразованные митохондрии (*Bargmann a. Knoop*, 1956; *Schulz*, 1959; *Klaus*, 1962) не приводя, однако, прямых доказательств подобной трансформации. Другие рассматривают пластинчатые включения как результат структурных превращений в клетке избыточного количества не связанных липидов (*Kazze*, 1956; *Campiche*, 1960; *Leeson*, 1966). Допускается также возможность происхождения пластинчатых телец из лизосом (*Balis*, 1964).

В 1954 году *Macklin* высказал предположение, что альвеолярные клетки типа II могут выделять пластинчатые включения в просвет альвеол, а *Kisch* (1957, 1961), *Kikkawa et al* (1965) и др. авторы описали различные стадии выхода телец в просвет альвеол.

Woodside a. Dalton (1958), обнаружив первое появление пластинчатых включений в лёгких плодов при 18 дневной беременности у мышей, предположили, что пластинчатые включения и поверхностно-активное вещество - "сурфактант" (от английского *surface activity*) между собой тесно связаны. Это предположение было подтверждено в экспериментах *Buckingham a. Avery* (1962), которые показали, что нормальная поверхностная активность легочных экстрактов впервые обнаруживается у плодов мышей при 18-ти дневной беременности. В это же время они также обнаружили пластинчатые тела в клетках типа II. Исследованиями *Klaus* с соавторами (1962) установлено, что уменьшение количества пластинчатых

включений сочетается с понижением поверхностной активности легочного экстракта.

Рядом исследователей было выделено из легочных экстрактов вещество, обладающее высокой поверхностной активностью. Введение его в лёгкие животных уменьшает поверхностное натяжение на стенках альвеол (*Mendenhall*, 1964; *Kikkawa et al*, 1965 и др.). По данным *Pattle и Thomas* (1961), *Klaus* с соавторами (1961), *Kikkawa* с соавторами (1965), *Pegney и Jonson* (1965) и многих других авторов, выделенное вещество (*surfactant*) представляет собой липопротеид высокого молекулярного веса.

Таким образом, многочисленные исследования убедительно показали связь между временем появления пластинчатых включений в альвеолярных клетках типа II и временем появления активности сурфактанта в легочных экстрактах. Однако, вопрос о том, с помощью какой специализированной гистологической структуры легкого сурфактант изменяет поверхностное натяжение на стенках альвеол, до сих пор остаётся не выясненным.

Chase (1959), используя метод замораживания - высушивания вместо фиксации четырёхокисью осмия, обнаружил под электронным микроскопом в лёгких крыс, мышей, цыпленка и летучих мышей на поверхности альвеол тонкий непрерывный гомогенный бесклеточный слой, который всегда сохраняет контакт с подлежащей соединительной тканью. Он считает этот слой той структурой, с которой связано поверхностно-активное свойство альвеолярной стенки. По данным же *Groniowski, Biczyskowa* (1962) *Bolande, Klaus* (1964) выстилающая плёнка расположена на поверхности альвеолярного эпителия.

Mendenhall (1964), исходя из физико-химических и электронномикроскопических исследований, считает, что вещество с поверхностно-активным свойством существует на стенке альвеолы в

виде сложной пластинчатой структуры, сходной с внутренними и наружными мембранами клетки.

Л и з о с о м ы. *Polisard* с соавторами (1959), наряду с вышеописанными пластинчатыми включениями ("цитозомами" - по его терминологии) описал сферические образования размерами в 0,2-0,5 мк, ограниченные плотной одиночной мембраной и содержащие внутри мелкие пузырьки диаметром от 100А до 500А. Аналогичные образования были обнаружены в клетках различных тканей и органов млекопитающих и, как показали биохимические исследования, они содержат набор ряда гидролитических ферментов с оптимумом действия в кислой среде. Подобные образования классифицируются как лизосомы (Де Дюв, 1962, 1964; *Grades*, 1966; Э.И.Пылдваре, 1966; А.Я.Красильникова, 1967; И.Б.Токин, 1968; Б.В.Втюрин, 1968).

Как полагает Де Дюв (1964), лизосомы играют роль "пищеварительного тракта" живой клетки. Их ферменты переваривают вещества захваченные клетками, а при некоторых условиях и саму клетку. Биохимическое понятие лизосомы определено очень чётко и не менее чётко они идентифицированы в таких органах, как печень и почки. Их же присутствие в клетках альвеолярного эпителия до сих пор достоверно не установлено. В многочисленной литературе по ультраструктуре лёгких присутствие лизосом в альвеолярных клетках типа II указывается лишь у *Balis* (1964), который считает их возможным источником образования пластинчатых включений.

К о м п л е к с Г о л ь д ж и, расположенный вокруг ядра клетки, состоит: 1/ группы крупных вакуолей; 2/ системы уплощенных мешков, которые лежат около краёв вакуолей; 3/ группы мелких пузырьков, "отпочковывающихся" от периферии уплощенных мешков. Все три компонента содержат гладкие, агранулярные мембраны. Данная ультраструктура комплекса Гольджи обнаружена в различных

тканях и органах млекопитающих (*Dalton, Feliks*, 1954; А.Поликар и Ш.Бо, 1962; И.А. Алов с соавт., 1966; Л.Херман с соавт., 1967; И.Б.Токин, 1968 и др.).

Вакуоли в цитоплазме альвеолярных клеток типа II присутствуют всегда, но количество и размер их (от 0,2 до 0,5 мк) не одинаковы в различных клетках. Вакуоли заполнены однородным содержимым без включений. Многие из них четко ограничены, однако мембрана не определяется (*Schulz*, 1959).

Вокруг вышеперечисленных органоидов находится основное вещество клетки - матрикс. Матрикс под электронным микроскопом выглядит гомогенным или мелкозернистым и обладает относительно низкой электронной плотностью. Полагают, что матрикс содержит, главным образом, глобулярные белки, а также большинство ферментативных систем (А.А.Заварзин и П.П.Румянцев, 1965).

Таким образом, характерной особенностью, отличающей альвеолярные клетки типа II от других клеток, является наличие в них специфических включений - осмиофильных пластинчатых телец.

Кроме фиксированных альвеолярных клеток типа I и II имеются еще так называемые свободные альвеолярные клетки (А.Поликар и Ш.Бо, 1962). Они находятся или в процессе отделения от альвеолярной стенки или в свободном виде в просвете альвеолы. По размерам эти клетки больше клеток типа II. По ультраструктуре подобны последним, с тем отличием, что количество митохондрий и включений типа пластинчатых в них немного больше.

По мнению большинства авторов, свободным альвеолярным клеткам, в отличие от клеток типа I и II, свойственна фагоцитарная функция (*Policard et al*, 1956, 1959, 1962; *Low, Sampao* 1957; *Hizomoto* 1958 и др.). Это положение было подтверждено в ходе экспериментов. После введения в легкие силиция (*Policard et al*, 1955),

торотраста (*Low*, 1957), ферритина и гемосидерина (*Richter*, 1957) под электронным микроскопом обнаруживалось скопление частиц этих веществ только в свободных клетках.

Базальная мембрана альвеолы. Несмотря на многочисленные электронномикроскопические исследования легких лабораторных животных (*Low*, 1953; *Rhodin, Dalhamn* 1956; *Schulz*, 1959; *Reidbord и Spitz* 1966; А.К. Кранчев, 1966; Х.С. Нургманова и А.Э. Шкутин, 1967; И.Н. Потапова и Н.И. Селезнев, 1967 и др.), ультраструктура базальной мембраны до сих пор представляется неясной.

Одни авторы описывают базальную мембрану как плотный ПАС-положительный гомогенный слой соединительнотканного вещества, толщиной от 200-500А до 0,1 мк (*Low*, 1953; *Hizomoto*, 1958; *Kazzer*, 1958 и др.). Другие же указывают, что в наиболее толстых участках базальной мембраны удается выявить пучки нежных коллагеновых фибрилл, диаметром 220-250А (*Kazzer*, 1956).

Электронномикроскопические наблюдения позволили выяснить характер связи базальной мембраны с альвеолярными клетками: между плазматическими мембранами последних и базальной мембраной всегда определяется весьма узкий светлый промежуток (шириной до 100А), позволяющий, как полагает А. Поликар (1962), при определенных условиях скользить альвеолярным клеткам.

Ультраструктура воздушно-кровеносного барьера легких

Электронная микроскопия позволила выявить в легких млекопитающих пятислойную структуру воздушно-кровеносного барьера: слой эндотелиальных клеток, базальная мембрана капилляра, интермембранозное пространство, базальная мембрана альвеолярной выстилки и тонкий слой цитоплазматических отростков малых альвеоляр-

ных клеток (*Low*, 1953; *Schulz*, 1959; *Campiche*, 1960; *Bücherl* с соавт., 1962; Ю.В.Голиков, 1966; Х.С. Нугманова и А.Э. Шкутин, 1967; В.Ф. Салов, 1967 и др.).

Э н д о т е л и й капилляров, также как и альвеолярная выстилка, непрерывен. Непрерывность эндотелия, как показала электронная микроскопия, обусловлена напоязанием края одной клетки на другую. Однако, на месте контакта клеток всегда определяется светлый промежуток шириной в 60-80А (*Kazzer*, 1956). В этом промежутке электронный микроскоп не выявляет "цементирующую субстанцию". Ранее наличие этой субстанции было постулировано рядом ученых (*Chambers* и *Zweifach*, 1947; *Zweifach*, 1955 и др.).

Цитоплазма эндотелиальных клеток содержит митохондрии обычной структуры, эндоплазматический ретикулум, немногочисленные гранулы РНК, слабо развитый комплекс Гольджи и ядро, часто неправильной формы.

Характерной особенностью эндотелиальных клеток является наличие в цитоплазме сферических вакуолей диаметром от 50 до 600-1500А, выполненных однородным и прозрачным содержимым и ограниченных тонкой мембраной. По мнению ряда исследователей, эти вакуоли являются выражением процесса апоцитоза (*Palade*, 1953; *Kazzer*, 1956; *Kisch* 1960).

Б а з а л ь н а я м е м б р а н а к а п и л л я р о в. По ультраструктуре она подобна таковой альвеолярной выстилки, отличается лишь наличием различной толщины и длины выступов в виде гребней, которые видны как со стороны эндотелия, так и со стороны альвеолярных клеток (*Polisard* с соавт., 1957).

В доступной литературе мы не встретили прямых указаний на наличие пор в эндотелии легочных капилляров. Однако, *Kisch* (1955) допускает возможность существования подобных пор.

И н т е р м е м б р а н о з н о е п р о с т р а н с т в о ,

разделяющее базальные мембраны альвеолярной и эндотелиальной выстилок, заполнено основным веществом соединительной ткани альвеолярной перегородки (см. ниже). В некоторых участках это пространство исчезает, и тогда обе мембраны выглядят слитыми в одну плотную линию (*Büchel* с соавт., 1962).

Базальная мембрана альвеолярной выстилки с распластанным на ней пластинчатым отростком малой альвеолярной клетки составляют последние два слоя воздушно-кровеносного барьера.

Несмотря на многослойность воздушно-кровеносного барьера, его общая толщина, как показала электронная микроскопия, весьма далека от принимавшейся ранее цифры в 2-4 мк: она колеблется от 0,15-0,25 до 0,1-0,5 мк - по одним данным (*Polizard* с соавт., 1954, 1962) и от 0,05 до 0,14 мк - по другим (*Kazzer, 1956; Bargmann, Kloof, 1956*). Подобная толщина барьера обеспечивает очень быстрый (в течение 0,3-0,8 секунды) газообмен в обоих направлениях (*Comroe* с соавт., 1955).

Ультраструктура альвеолярной перегородки

Альвеолярная перегородка, ограниченная с обеих сторон базальными мембранами альвеолярной выстилки, образована основным веществом соединительной ткани и содержит сеть кровеносных капилляров, фибриллы и так называемые "септальные клетки".

Электронная микроскопия не изменила прежних представлений об основном веществе соединительной ткани: оно выглядит под электронным микроскопом гомогенным, лишенным какой-либо выраженной структуры.

Однако, электронная микроскопия существенно дополнила данные световой микроскопии о тонком строении фибриллярных структур альвеолярной перегородки.

К о л л а г е н о в ы е в о л о к н а. Коллагеновые волокна образованы первичными коллагеновыми фибриллами, диаметром от 100 до 200-300А (*Hizomoto*, 1958 и др.), обладающими характерной поперечной исчерченностью, с интервалом повторяемости в 640А, что соответствует периодичности поперечной исчерченности первичных коллагеновых фибрилл, обнаруживаемых в самых различных соединительнотканых участках организма млекопитающих и человека (*Kennedy*, 1955; А.А.Зайдес, Г.В.Орловская, 1960; А.Поликар и А.Колле, 1966; Р.С.Морозова и Н.И.Морохова, 1968 и др.).

Было установлено также, что первичные коллагеновые фибриллы, сгруппированные в плотные пучки диаметром от 0,2 до 1-2 мк., образуют основную форму легочного коллагена, участвуя в образовании ретикулинового каркаса лёгких.

Р е т и к у л и н о в ы е (а р г и р о ф и л ь н ы е) в о л о к н а. Электронная микроскопия позволила разрешить спор о том, являются ли коллагеновые и ретикулиновые волокна различными субстанциями, или различными степенями развития одной и той же субстанции. Считают, что основа коллагена и ретикулина одна и та же - первичные коллагеновые фибриллы. Волоконца ретикулина содержат от 400 до 500 (*Schulz*, 1959) первичных коллагеновых фибрилл, которые идут параллельно друг другу, объединяясь (но не склеиваясь) интерфибриллярным материалом, производным от основного вещества соединительной ткани. Этот межволокнуистый "цементирующий" материал и обуславливает аргирофилию и PAS реакцию ретикулиновых волоконцев (Г.В.Орловская, А.А.Тустановский и А.Л.Зайдес, 1959; А.Поликар и А.Колле, 1966).

Э л а с т и ч е с к и е в о л о к н а на ультрасрезах имеют вид широких неправильно ограниченных однородных тяжей, шириной от 0,18 до 1,15 мк (*Low*, 1953; *Schulz*, 1956; *Hizomoto*, 1958 и др.). Однако, несмотря на многочисленные описания

ультраструктуры эластических волокон, мнения авторов о природе фибрилл, составляющих эти волокна, расходятся.

Так, *Wassezmann* (1954) и *Dettmer* (1955) считают, что эластические волокна состоят из фибрилл с той же периодичностью, что и в коллагеновых волокнах. *Giese* и *Gieseke* (1957) указывают на возможность участия волоконца ретикулина в построении эластических волокон. *Schulz* же (1959) вообще отрицает фибриллярный синтез эластических волокон. Однако, А.Поликар и А.Колле (1966), исходя из данных поляризационной и электронной микроскопии, полагают, что эластическое вещество состоит из тонких нитей коллагена или параколлагена, погруженных в особо плотную цементирующую субстанцию мукопротеиновой природы.

С е п т а л ь н ы е к л е т к и. Сведения об ультраструктуре септальных клеток единичны и отрывочны (*Braunsteiner* с соавт., 1953; *Stoeckenius*, 1957; А.Поликар и Ш.Бо, 1962). Различают группу маленьких лимфоцитообразных клеток, группу клеток с выраженной эргастоплазмой и клеток, характеризующихся светлым ядром, обильной цитоплазмой, многочисленными митохондриями и вакуолями.

В доступной нам литературе по электронной микроскопии легких лабораторных животных мы не встретили сообщений о наличии в межалвеолярной перегородке гладких мышечных клеток.

Ультраструктура клеток эпителия альвеолярных ходов, бронхиол и трахеобронхиальной слизистой оболочки

Kisch (1958) в альвеолярных ходах и бронхиолах отмечает 3 типа клеток: реснитчатые, не реснитчатые и, так называемые, специфические клетки лёгких (альвеолярные клетки типа II, других авторов). Последние, по его мнению, в альвеолярных ходах и брон-

хиолах присутствуют в небольшом количестве. *Bücherl* же (1962), указывает, что альвеолярные ходы покрыты исключительно альвеолярными клетками типа II.

В бронхиолах, наряду с реснитчатыми, слизистыми и замещающими клетками, присутствуют клетки без мерцательных ресничек, которые находятся на концах бронхиол. Они мало изучены. Их особенность - большое ядро и наличие в цитоплазме гладкого эндоплазматического ретикулума, осmioфильных телец, имеющих пластинчатое строение (*Dalton* и *Felix*, 1956; *Kisch*, 1958).

Электронная микроскопия позволила раскрыть субмикроскопическую организацию мерцательных ресничек у реснитчатых клеток. Каждая ресничка покрыта обычной 3-х слойной мембраной, толщиной в 70А (*Rhodin* и *Dalhamn*, 1956) и содержит внутри центральную осевую двойную нить, вокруг которой равномерно расположены 9 так же двойных нитей.

Электронномикроскопические исследования трахео-бронхиальной слизистой оболочки показали, что ее эпителиальный покров сходен с таковым в бронхиолах, отличаясь лишь наличием дополнительных клеток со щеточной каемкой (*Engstzörn*, 1951; *Rhodin* и *Dalhamn* 1956; *Hizomoto*, 1958; *Schulz*, 1959). Особенностью этих клеток является наличие на их свободной поверхности вместо ресничек коротких, неправильной формы цитоплазматических отростков, образующих под световым микроскопом вид щеточной каемки.

Ультраструктура лимфатических капилляров и артериол

В литературе по электронной микроскопии легких животных мы не встретили указаний на наличие лимфатических капилляров. По данным *Schulz* (1959), в альвеолярной стенке обнаруживаются

только межклеточные щели, которые переходят в лимфатические сосуды прекапилляра. Последние переходят в периартериальные лимфатические сосуды.

Сведения об ультраструктуре артериол и венул отрывочны и представлены в единичных сообщениях (*Fawcett*, 1956; *Schulz*, 1959; *Mezgow* и *Kleinezman*, 1966).

Изменение ультраструктуры лёгких при острой гипоксии

Изучению ультраструктуры лёгких плодов, новорожденных и взрослых животных после острой гипоксии посвящены единичные исследования (*Schulz*, 1957, 1959; *Bücherl* с соавт., 1962; Л.М. Крылов, 1965, 1968; Ю.В. Голиков, 1966; *Reidbord* и *Spitz*, 1966).

Schulz (1959), в лёгких крыс после длительного пребывания в барокамере на "высоте" от 5000 до 10000 м выявил усиленную вакуолизацию эндотелия капилляров, набухание и разрыв альвеолярных клеток и весьма выраженную вакуолизацию митохондрий, вплоть до полного исчезновения крист и разрыва наружных мембран.

После длительного пребывания крыс в атмосфере с 3,5% содержанием углекислоты *Schulz* (1957, 1958) обнаружил резкое расширение капилляров, воспалительные инфильтраты в альвеолярной перегородке и большое количество пластинчато преобразованных митохондрий в альвеолярных клетках. Подобные преобразования митохондрий, а также некротические изменения в альвеолярном эпителии, *Schulz* объясняет непосредственным воздействием углекислоты на клетку.

Однако, *Bücherl* с соавторами (1962) в лёгких собаки, дышавшей 2 часа воздухом с 70% содержанием углекислоты, не обнаружили практически никаких изменений в ультраструктуре митохондрий и в целом в воздушно-кровеносном барьере лёгких. Они отметили

только расширение капилляров, просвет которых был выполнен эритроцитами с пониженной электронной плотностью. Расширение капилляров при гиперкании авторы рассматривают как пассивное, обусловленное лишь сильно набухшими эритроцитами.

Л.М.Крылов (1965) при внутриутробной гипоксии, вызванной наложением лигатуры на пуповину крысят, наибольшие изменения обнаружил в альвеолярных клетках. Изменения носили дистрофический характер и проявлялись в набухании и вакуолизации митохондрий и эндоплазматического ретикулума, просветлении нуклеоплазмы и конгломерировании хроматина в ядрах клеток.

Reidbord и *Spitz* (1966) отмечают, что в лёгких крысы после 25 минутного пребывания в закрытом контейнере (кусочки лёгкого забирались спустя 1-2 минуты после последнего вздоха) наиболее характерным является наличие большого количества вакуолей в эндотелии капилляров. Усиленная вакуолизация эндотелия, особенно присутствие в нём больших вакуолей, по мнению авторов является выражением нарушенной проницаемости капиллярной стенки. Однако, в альвеолярных клетках обнаружены незначительные изменения проявляющиеся в расширении эндоплазматической сети в клетках типа II и набухании пластинчатых отростков у клеток типа I. Исходя из полученных данных, *Reidbord* и *Spitz* приходят к выводу, что аноксия ткани не вызывает немедленных или тяжёлых изменений ультраструктуры. Распределение внутриклеточной воды, скопление молочной кислоты вследствие анаэробного гликолиза и другие предсмертные изменения, могут иметь, по мнению авторов, большее значение в структурной аномалии, чем сама аноксия.

Что касается субмикроскопических изменений в лёгких новорожденных детей при гипоксических состояниях, то в доступной отечественной литературе нам удалось найти только отрывочные единичные сообщения об электронномикроскопическом исследовании лёгких

новорожденных детей (Л.М.Крылов, 1965; Л.О.Вишневецкая с соавт., 1967).

По их данным, при острой и непродолжительной гипоксии ультраструктурные изменения в лёгких свидетельствуют об активизации обменных процессов, а при более длительном кислородном голодании выявляются различного характера и глубины дистрофические изменения в клетках альвеолярной и эндотелиальной выстилок.

В зарубежной литературе изучению ультраструктуры лёгких плодов и новорожденных детей также посвящены немногочисленные исследования (*Neustein и Bzeemen*, 1956; *Bzeemen и Neustein* 1957; *Bommez*, 1961, 1962; *Campiche et al*, 1961, 1962, 1964; *Grzoniowski*, 1962-1964; *Balis et al*, 1966).

По данным *Campiche* с соавторами (1963), ультраструктура легочных капилляров у 3-4 месячных плодов, а ультраструктура воздушно-кровеносного барьера у 5-6 месячных плодов соответствует таковой в лёгких новорожденных детей и даже взрослых людей.

В лёгких новорожденных детей альвеолы выстланы непрерывным слоем альвеолярного эпителия, состоящего из клеток типа I и II. Альвеолярная выстилка и непрерывный слой эндотелия капилляров разделяются или одной, или двумя базальными мембранами, между которыми определяется различной ширины соединительно-тканное пространство (*Bzeemen*, 1957; *Campiche*, 1961; *Balis*, 1966 и др.). Таким образом, данные о непрерывной альвеолярной выстилке и её клеточном составе в лёгких новорожденных детей соответствуют данным *Low* (1953), *Bücherl* (1962) и др., полученных при исследовании альвеолярной выстилки у различных животных.

При исследовании лёгких новорожденных детей, погибших при явлениях так называемого синдрома дыхательных расстройств, зарубежные авторы основное внимание уделили изучению субмикроскопи-

ческой организации гиалиновых мембран и тех изменений, которые вызваны присутствием последних в терминальных воздушных пространствах.

У новорожденных, погибших при явлениях дыхательной недостаточности, в клетках альвеолярного эпителия отмечено появление большого количества пиноцитозных пузырьков (*Bremer и Neustein* 1957), усиленная вакуолизация эндотелия капилляров (*Campiche* с соавт., 1961), изменение митохондрий от набухания и появления пластинчато преобразованных митохондрий — до полного их разрушения (*Gzoniowski*, 1964), а также различная степень внутриклеточного и септального отёка, с местным утолщением базальных мембран (*Balis* с соавт., 1966).

При наличии гиалиновых мембран в терминальных бронхиолах, альвеолярных ходах и альвеолах, наибольшие изменения отмечены со стороны альвеолярной выстилки.

Так, *Campiche* с соавторами (1961, 1962) указывают, что в случае наличия пространства между гиалиновой мембраной и альвеолярным эпителием, последний выглядит малоизмененным. И наоборот при соприкосновении гиалиновой мембраны с эпителием, альвеолярные клетки могут полностью некротизироваться и войти в состав гиалиновых мембран, которые оказываются лежащими на утолщённой нечёткой, с пузырьками пиноцитоза базальной мембране (*Gzoniowski* и *Biczyskova*, 1963 и др.).

Изменения со стороны капиллярной стенки проявляются в набухании и утолщении эндотелия, появлении в нём вакуольно преобразованных митохондрий и пиноцитозных пузырьков. По мнению *Gzoniowski* (1963), процесс пиноцитоза в эндотелии капилляров при так называемой гиалиново-мембранной болезни менее выражены, чем в альвеолярной выстилке.

В гиалиновых мембранах, гомогенных под световым микроскопом, электронномикроскопически выявлены обломки ядер, измененные митохондрии и пластинчатые включения, вакуоли, фрагменты мембранозных профилей, тонкозернистый материал и различные волокна. Однако, электронная микроскопия не внесла ясности в дискутирующийся до сих пор вопрос о наличии в гиалиновых мембранах фибрина.

Neustein и *Bzeemen* (1956) считают, что основу гиалиновых мембран составляет фибрин, находящийся в различных стадиях свёртывания. Они отметили в гиалиновых мембранах волокна с периодичностью, характерной для волокон фибрина. Аналогичные волокна в гиалиновых мембранах обнаружил также *Campiche* с соавторами (1961, 1962).

По данным же *Balis* с соавторами (1966), материал с морфологической характеристикой фибрина часто выявляется лишь в альвеолах с кровоизлиянием или в альвеолах, выполненных воспалительным экссудатом. В альвеолах с наличием только гиалиновых мембран подобный материал обнаруживался редко.

Необходимо отметить, что выше перечисленные авторы, говоря о периодичности волокон, выявленных в гиалиновых мембранах, не указывают конкретно известного периода повторяемости волокон фибрина, который равен 230А (*Levene*, 1955; *Hall*, 1963 и др.); и коллагена - 640А (*Hizomoto*, 1958; А.А.Зайдес, Г.В.Орловская, 1960; А.Поликар и А.Колле, 1966 и др.).

Противоречивыми также являются сведения об этиопатогенезе синдрома дыхательных расстройств и гиалиновых мембран с точки зрения субмикроскопических находок.

Так, *Campiche* с соавторами (1962), исходя из того, что в альвеолах лёгких новорожденных, погибших при явлениях дыха-

тельной недостаточности, обнаружено снижение (по сравнению с нормой) количества пластинчатых включений в альвеолярных клетках типа II, предположили, что развитие данного синдрома обусловлено недостатком или отсутствием пластинчатых включений и связанного с ними антиателектатического фактора - сурфактанта.

Однако, *Balis* с соавторами (1966) отрицают точку зрения *Campiche*. По их данным, уменьшение количества пластинчатых включений при синдроме дыхательной недостаточности наблюдается только в первые несколько часов жизни. У новорожденных же, проживших от 14 до 18 часов, количество включенных телец достигает нормальных цифр. По мнению *Balis*, секреция альвеолярными клетками типа II пластинчатых включений и, возможно, связанного с ними антиателектатического фактора, является поздним событием, отмечающим, может быть, фазу выздоровления. Эти данные согласуются с ранее проведенными исследованиями *Gzuenwald* (1963, 1964) который установил, что при синдроме дыхательной недостаточности увеличение легочного "сурфактанта" вело к более стабильному расширению альвеол при выживании новорожденных после первого или второго дня жизни.

В патогенезе гиалиновых мембран одни авторы (*Campiche*, 1962) подчёркивают значение сочетания изменений в эндотелии капилляров с повреждением альвеолярного эпителия. Другие предполагают, что в начальной стадии образования гиалиновых мембран ведущую роль играет процесс пиноцитоза в эндотелии капилляров, обуславливающий транссудацию плазмы крови в просвет альвеол (*Gzoniowski*, 1963, 1964).

По мнению *Balis* (1966), образование гиалиновых мембран осуществлялось только при транссудации через хорошо развитые воздушно-кровеносные барьеры, что вело к повреждению альвеолярного эпителия.

В связи с выше-изложенными данными об электронномикроскопическом исследовании лёгких новорожденных необходимо отметить следующее.

В цитированных работах время забора материала или совсем не указывается (*Bzeemen*, 1957; *Campiche*, 1961, 1962; Л.М. Крылов, 1965) или не конкретизируется, а употребляются фразы "немедленно после смерти", "сразу после смерти" или в первые 20 минут после смерти" (*Gzoniowski*, 1963, 1964; *Balis*, 1966).

В сообщении *Bommer*(1961), исследовавшего пластинчатые включения в альвеолярных клетках, материал забирался между 6 и 14 часами после смерти. Однако, автор интерпретирует полученные электронномикроскопические картины вне связи с посмертными изменениями, особенно таких лабильных внутриклеточных органоидов, как митохондрии и пластинчатые включения.

В данных работах не изучена зависимость между продолжительностью гипоксического состояния и степенью выраженности ультраструктурных изменений в клетках легочной ткани.

Отсутствуют сведения о состоянии новорожденных в предагональном периоде и агональном, о состоянии материнского организма во время беременности и в период родовой деятельности. Между тем, хорошо известно (Л.С.Персианинов, 1967 и др.), что асфиксия новорожденных может быть следствием многих видов акушерской патологии и заболеваний материнского организма. Установление возможной корреляции между подобными состояниями и характером и протяженностью субмикроскопических изменений в лёгких новорожденных детей, представляет несомненный интерес с точки зрения этиологии и патогенеза асфиктических состояний.

3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенный обзор данных литературы показывает, что за

последние годы электронная микроскопия позволила выяснить, а также уточнить и разрешить некоторые спорные вопросы о тонком строении легких.

Хорошо изучена ультраструктура альвеолярной выстилки. Установлено, что выстилка альвеол в легких как у новорожденных, так и у взрослых млекопитающих животных и человека, непрерывна и состоит из двух типов альвеолярных клеток. Клетки типа I своими пластинчатыми отростками покрывают большую часть стенки альвеолы, включая и капилляры, выступающие в просвет альвеолы. В клетках типа II выявлены пластинчатые включения, с которыми связывают наличие в легких поверхностно-активного вещества, изменяющего поверхностное натяжение на стенках альвеол ("антиателектатический фактор").

Достаточно изучена ультраструктура воздушно-кровеносного барьера легких, состоящего из пяти слоев: альвеолярный эпителий и эндотелий капилляров разграничены двумя базальными мембранами, между которыми определяется различной ширины соединительнотканное пространство.

Таким образом, электронная микроскопия показала, что капиллярная стенка со стороны просвета альвеолы не оголена, как полагали раньше, а покрыта тонким непрерывным слоем цитоплазмы пластинчатых отростков типа I.

Однако, несмотря на то, что изучение ультраструктуры легких производилось, главным образом, на экспериментальном материале, до сих пор недостаточно изучены субмикроскопические изменения в легких лабораторных животных при острой гипоксии, в частности, в воздушно-кровеносном барьере легких новорожденных животных. Почти не изучена ультраструктура легких у плодов человека. Недостаточно изучены субмикроскопические изменения в легких

новорожденных детей, погибших от асфиксии. Отсутствуют сведения о глубине и характере ультраструктурных посмертных изменений в лёгких новорожденных детей, погибших от асфиксии и вскрытых через различные промежутки времени после смерти.

ГЛАВА II

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

I. Характеристика экспериментального материала

Эксперименты проведены на новорожденных крысятах первых суток жизни и беременных крысах. В опыт брались крысята только одного помета, со средним весом крысенка в 5 гр. Контролем служили 3 крысенка из каждого помета. Период голодания у крысят перед опытом - 1 час, у беременных крыс - 2 часа. В ходе экспериментов электронномикроскопически и гистологически изучены легкие у 427 плодов и новорожденных крысят.

Для изучения спонтанных посмертных изменений и острой гипоксии поставлены четыре серии опытов.

В первой серии опытов для выяснения динамики посмертных изменений легкие крысят исследовались спустя 5-15-30 минут, а также через 1-3-6-12-24-48-72 часа после декапитации. Декапитированные крысята хранились при комнатной температуре. В одном из опытов они находились в течение 72 часов в холодильнике.

Во второй серии экспериментов внутриутробная острая гипоксия получена путем перевязки пуповины крысят. Для этого беременной крысе в день предполагаемых родов (на 22-й - 23-й день беременности) производился наркоз 10% раствором эвипана натрия, который вводился внутривентрально из расчета 0,01 см³ на 100 г веса. Крыса помещалась до передних конечностей в ванну с физиологическим раствором, имеющим температуру 38-39⁰. После вскрытия брюшной полости через разрезы стенки рогов матки, извлекались плоды и перевязывалась их пуповина. У контрольных плодов пуповина не перевязывалась. Спустя 10-25-35-45 минут после перевязки пуповины плоды декапитировались и легкие извлекались для исследования.

В т р е т ь е й серии опытов постнатальная острая гипоксия получена двумя путями: помещением крысят в замкнутое пространство и в барокамеру.

В первом случае по 3 крысенка помещались в герметичную стеклянную камеру объемом в 140 см³ на 5-15-30-45 минут и на 1-2-3 часа.

Во втором случае крысята находились в барокамере на "высоте" 10000 м в течение 30 минут, 1 часа и 2-х часов, а также на "высоте" 13000 м в течение 5 часов.

В ч е т в е р т о й серии экспериментов производилось изучение динамики посмертных изменений в легких крысят после предварительно перенесенной острой гипоксии. Для этого крысята помещались в герметичную камеру на 5-15-30-45 минут и на 1-2-3 часа. Затем, после каждого периода гипоксии, крысята декапитировались и легкие исследовались через 5-15-30 минут, а также через 1-2-3-6-12-24-48-72 часа после смерти. Ход опытов представлен в нижеследующей таблице.

Продолжительность периода острой гипоксии	Продолжительность "наслаива- ния" посмертных изменений	
5 минут	от 5 минут до 72 часов	
15 "	-"-	-"-
30 "	-"-	-"-
45 "	-"-	-"-
1 час	-"-	-"-
2 часа	-"-	-"-
3 часа	-"-	-"-

Характеристика секционного материала

Электронномикроскопически исследованы легкие 8 плодов и 28 новорожденных, погибших в ранний неонатальный период от асфиксии.

Плоды весом от 700,0 до 950,0 получены путем операции кесаревого сечения при 20-28 неделях нормально развивавшейся беременности. Причиной кесаревого сечения послужили психические заболевания беременных.

Новорожденные, с продолжительностью внутриутробного периода от 27 до 38 недель, по весу и росту распределялись следующим образом:

от 1000,0	до 1500,0	- 14	(рост 34-41 см)
от 1501,0	до 2000,0	- 6	(рост 39-42 см)
от 2001,0	до 2500,0	- 4	(рост 44-46 см)
свыше	2501,0	- 4	(рост 46-49 см)

Все 28 новорожденных погибли от асфиксии в течение первых 3 суток жизни, из них:

через 4-12 часов	- 5
" 12-24 "	- 10
" 24-48 "	- 9
свыше 48 часов	- 4

Наибольшая продолжительность жизни - 2 суток 9 часов.

Клинические признаки внутриутробной асфиксии отмечены у 3 детей.

В целом из патологии беременности и родов отмечены заболевания сердечно-сосудистой системы (4), нефропатия (1), различной степени отслойка плаценты (5), предлежание плаценты (2), абсолютная короткость пуповины (2), предлежание пуповины, аномалия положения плода (6), криминальное вмешательство (2), отягощенный акушерский анамнез (2) и быстрые роды (3).

С целью сопоставления с экспериментальными данными изучена динамика посмертных изменений в легких трех плодов (выкидышей) в сроке 18-20 недель беременности.

Для этого кусочки легкого забирались непосредственно на месте через разрез грудной стенки спустя 30 минут, 1-3-6-12-24-48-72 часа после смерти.

Кусочки же из легких новорожденных детей, погибших в асфиксии, забирались из верхней, средней и нижней доли, а также из передних и задних отделов легких. Самое раннее время вскрытия было через 3 часа после смерти, наиболее позднее через 48 часов.

Подготовка материала для электронно-микроскопического исследования

Сложность методов подготовки объектов для исследования часто тормозит эффективное использование электронного микроскопа для решения тех или иных частных проблем (А.Н.Пилянкевич, 1961). Широкое внедрение электронной микроскопии в практику патолого-анатомических исследований связано не только с преодолением проблемы посмертных изменений, но и с усовершенствованием и упрощением техники подготовки и проведения электронномикроскопических исследований. В связи с этим представляется целесообразным подробнее осветить некоторые вопросы практики электронной микроскопии с учетом собственных данных и данных литературы, не касаясь деталей и теоретического обоснования тех или иных процессов и приемов, которые достаточно освещены в различных руководствах и статьях (В.И.Бирюзова с соавт., Л.С.Гольдин; Д.Пиз, 1963; David, 1964; Б.Афцелиус, 1965 и др.).

Ф и к с а ц и я . Основная цель фиксации для электронной микроскопии - сохранение прижизненной организации клеток и тка-

ней. Это диктует необходимость максимального сокращения промежутка времени между прекращением основных жизненных функций организма и началом фиксации. Подобное требование реально в условиях эксперимента, но трудно выполнимо при исследовании секционного материала.

Исходя из установленного положения, что ультраструктура клеток различна при применении разных систем фиксатор-буфер (Л.С. Гольдин, 1963; Ericsson с соавт., 1965 и др.) мы использовали в работе в качестве фиксаторов различные забуференные растворы четырехоксида осмия (Palade, 1952; Sjöstrand, 1953; Caulfield 1957; Millonig, 1961), хром-осмиевый фиксатор (Dalton, 1955) и глутаральдегид (И.Б.Токин и П.Рёлих, 1965).

Однако, учитывая тот факт, что подавляющее большинство работ по электронной микроскопии легких животных и человека выполнено при использовании "стандартного" фиксатора Palade (1952) нами, в целях сопоставления полученных данных с данными литературы, применен в основном фиксатор Palade.

Выделение кусочков легких для фиксации

После декапитации крысят легкие извлекались в комплексе с сердцем. Вырезанные из легких кусочки измельчались бритвенным лезвием до объема кусочков приблизительно в 1 мм^3 .

В ряде руководств по электронной микроскопии (В.И.Бирюзова, 1963 и др.) измельчение ткани рекомендуется производить на плексигласовой пластинке в капле осмиевого фиксатора. По нашим наблюдениям это предположение не дает особых преимуществ в качестве фиксации, тогда как трудности при этом способе, как справедливо отмечает Д.Пиз (1963), всегда могут возникнуть. При соприкосновении бритвенных лезвий с четырехокисью осмия образу-

ется черный осадок, для устранения которого требуется практически постоянное орошение измельченной ткани фиксатором. Учитывая очень медленную скорость проникновения в ткань четырехоксида осмия - 40-50 мк за 5 минут (*David*, 1964), трудно ожидать эффекта фиксации за 10-15 секунд измельчения ткани.

Сравнив электронные микрофотографии, полученные с контрольных легких, кусочки которых измельчались в капле фиксатора и без фиксатора, но на пластинке, охлажденной до -1° , -2° , мы не обнаружили заметной разницы в ультраструктуре клеток.

Для постоянного охлаждения тонкой пластинки, полученной из заполимеризованного бутилметакрилата, мы предлагаем использовать (*Ю.В.Голиков*, 1968) столик обычного замораживающего микротом с селеновым выпрямителем. Охлаждение прикрепленной к столику пластинки может быть ускорено под струей хлорэтила.

Измельченные кусочки легких с помощью пинцета, кbranche которого прикреплены полоски гусиного пера, переносятся в фиксатор. Время фиксации - 1 час. Наши исследования подтвердили данные *Low* (1954) о том, что увеличение времени фиксации легких свыше 1-2 часов ведет к заметному изменению ультраструктуры легких. Однако рекомендуемое *Low* оптимальное время фиксации легких в течение 15 мин., когда клетки выглядят "интактными", исследователями практически не используется, т.к. при подготовке блоков для ультрамикротомирования неизбежно срезается какая-то часть поверхности кусочка, что создает опасность получения срезов из плохо зафиксированных участков блока. При фиксировании же в течение 1 часа четырехокисью осмия проникает на глубину около 0,5 мм, что создает большие возможности при дальнейшей обработке блоков, в частности, получение срезов толщиной в 0,5-1 мк для целей свето-

вой микроскопии.

Обезвоживание. Процесс обезвоживания после фиксации мы начинаем с 2-х кратного споласкивания кусочков в 25% спирте, без длительной промывки в каких-либо других жидкостях, так как установлено, что в процессе обезвоживания идет довольно интенсивная отмычка кусочков от избытка фиксирующего вещества (Л.С.Гольдин, 1963 и др.).

При проводке через 70% спирт, в последний, в целях повышения контрастности материала, добавлялись 1% фосфорновольфрамовая кислота и 0,5% уранилацетат (*Wohlfazth-Buttermann* 1957). При дальнейшей проводке с целью равномерного пропитывания кусочков смесью спирта с метакрилатами и особенно смесью метакрилатов, использовалось следующее разработанное нами приспособление (Ю.В. Голиков, 1968).

Пенициллиновые флакончики с растворами помещались в гнезда наклонно расположенного вращающегося диска. Медленное вращение диска достигалось с помощью шкивов разного диаметра, меньший из которых насажен на ось I фазного асинхронного электрического моторчика типа 843 с редуктором на 100 об/мин (рис. I).

Заливка материала. Основную массу исследований мы провели с использованием метакрилатов. Н-бутилметакрилат и метилметакрилат представляют собой эфиры метакриловой кислоты. Они хорошо смешиваются в мономерном состоянии друг с другом. Для легких наиболее подходящей оказалась смесь бутилметакрилата и метилметакрилата в пропорции 4:1. Однако, эта пропорция меняется, как показали наши наблюдения, не только при использовании каждой новой заводской партии метакрилатов, но и в зависимости от длительности хранения их. С увеличением времени хранения твердость

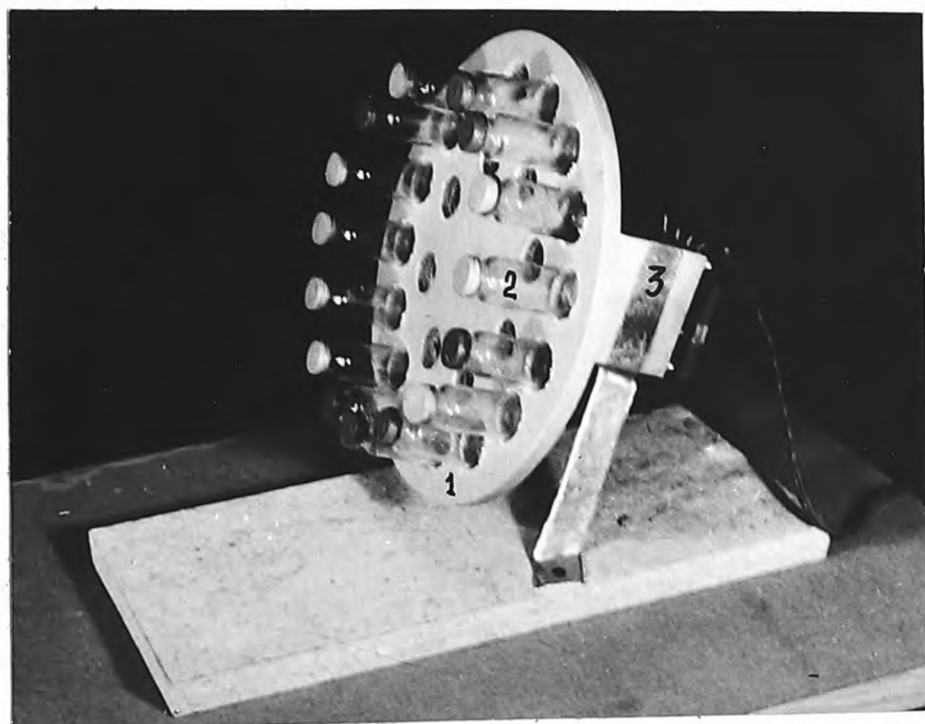


Рис. I. Приспособление для механического перемешивания фиксирующих и заливочных сред.

- I - вращающийся диск
- 2 - пенициллиновые флакончики
- 3 - электромоторчик с редуктором.

бутилметакрилата после полимеризации нарастает, что ведет к уменьшению процентного содержания метилметакрилата или полному исключению его и заливке в один бутилметакрилат. Нами отмечено, что при использовании метакрилатов, хранившихся в течение I-I,5 года, полимеризационные повреждения типа "маковых зерен" (*David*, 1964) на электронных микрофотографиях встречаются чаще. Нами также отмечено, что одной из причин длительной и неравномерной полимеризации может быть недостаточная чистота перекиси бензоила, употребляемая в качестве катализатора. По-видимому, имеющиеся в ней примеси играют роль ингибиторов полимеризационного процесса. Дополнительной перекристаллизацией перекиси бензоила можно улучшить ее свойства. Поскольку в руководствах по электронной микроскопии вопрос очистки перекиси бензоила не освещен, мы приводим схему этой очистки, заимствованной из института неорганической химии УФАНа.

50 г перекиси бензоила растворить (без подогрева) в 200 мл хлороформа, профильтровать и добавить 250 мл метилового спирта. Оставить стоять на 2-3 часа) (можно до следующего дня) в холодильнике. Слить с осадка жидкость и высушить последний (без подогрева) на воздухе или в вакуум-эксикаторе. Чистый выход перекиси бензоила приблизительно 30 г.

Для окончательной заливки кусочков в желатиновых капсулах № I и № 2 мы использовали предполимеризованную по Л.С.Гольдину (1963) смесь метакрилатов с 1% содержанием перекиси бензоила.

Таким образом, нами была использована следующая схема подготовки препаратов легкого для исследования в электронном микроскопе.

На холоду (+2 - 4°):

- I) осмиевая фиксация I час
- 2) споласкивание 25% спиртом (дважды).

- 3) помещение в 50% спирт на 5 мин.
- 4) помещение в 70% спирт, содержащим 1% фосфорновольфрамовой кислоты и 0,5% уранилацетата на 30 мин
- 5) то же на 30 мин

При комнатной температуре:

- 6) помещение в 96% спирт на 15 мин
- 7) то же. на 15 мин
- 8) помещение в абсолютный спирт на 30 мин
- 9) помещение в смесь абсолютного спирта со смесью метакрилатов (1:1). на 30 мин
- 10) пропитывание смесью бутилметакрилата с метилметакрилатом (4:1). на 30 мин
- 11) то же на 30 мин
- 12) пропитывание смесью метакрилатов (4:1) с 1% перекисью бензоила на 30 мин
- 13) то же на 30 мин
- 14) заливка в капсулы и полимеризация при 50°C 24 часа

Примечание: при необходимости кусочки оставались в 70% спирте на ночь, но без фосфорновольфрамовой кислоты и уранилацетата. Наряду с метакрилатами нами использованы в качестве сред для заливки также аралдит М и Дуркупан (Флюка).

Люминесцентная микроскопия как предварительный этап электронномикроскопического исследования

Для целенаправленного выбора и выделения необходимого участка легкого для электронномикроскопического изучения секционный материал предварительно исследовался под люминесцентным микроскопом по разработанной нами методике (Ю.В.Голиков, 1964, 1967).

С кусочков легочной ткани, вырезанных из верхних, средних и нижних отделов легкого, бритвенным лезвием срезается тонкая пластинка, которая помещается на столик замораживающего микротом.

Свежезамороженные срезы с ножа микротомы опускаются в слегка подщелоченную воду, споласкиваются в дистиллированной воде и флюорохромуются в водном растворе корифосфина 1:1000 (1 мин). Далее следует дифференциация подкисленным спиртом (1/2 мин), промывка в дистиллированной воде (2 мин), флюорохромирование акридиновым оранжевым (1:10000) в буферном растворе Михаэлиса при pH 6,5 (1/2 мин), промывка в дистиллированной воде (5 мин), заключение среза в капле дистиллированной воды под покровное стекло и микроскопирование с помощью люминесцентного устройства ОИ-17 и осветителя ОИ-18. Фотографирование проводилось на обычной негативной пленке, а также на цветной негативной и обратимой пленке для дневного света (Пирс, 1962).

Однако, если легко и быстро можно изготовить препарат для люминесцентной микроскопии, то труднее сохранить качество его люминесценции. Для приготовления постоянных препаратов были предложены как жидкие, так и твердые не флюоресцирующие среды (В.Д.Арутюнов, 1956, 1959; М.П.Бухман с соавторами, 1956 и др.).

В качестве твердой не флюоресцирующей среды для заключения флюорохромированных срезов нами предложено (Ю.В.Голиков, 1966) использовать смесь бутилметакрилата и метилметакрилата, употребляемую для целей электронной микроскопии. Ни метакрилаты, ни перекись бензоила, входящая в эту смесь в качестве катализатора, собственной люминесценцией практически не обладают, а метакрилаты не растворяют в себе флюорохрома. Другим преимуществом является их совершенная обезвоженность - оставшаяся в срезе вода поглощается метакрилатами без вымывания флюорохрома из среза.

П р и г о т о в л е н и е п р е п а р а т о в : 1. Флюорохромированные и промытые срезы тщательно обсушиваются фильтровальной бумагой. На предметные стекла со срезами, уложенные на стек-

лянные палочки в чашки Петри, наливается предполимеризованная до медообразной консистенции смесь метакрилатов или один мономер - бутилметакрилат.

2. Чашки Петри с закрытыми крышками ставятся в термостат при температуре 50° . Спустя 2-4 часа крышки с чашей снимаются и полимеризация продолжается 8-12 часов (обычно до следующего утра). После окончания полимеризации срезы оказываются заключенными в тонкую, твердую и прозрачную пластинку метакрилатов. Надобность в покровном стекле отпадает, при микроскопии иммерсионные (не люминесцирующие) масла наносятся прямо на заподимеризованный срез.

Поскольку в доступной отечественной литературе нам не удалось встретить сообщений о люминесцентно-микроскопическом исследовании легких новорожденных детей, мы кратко приводим результаты нашего изучения люминесценции легочной паренхимы у новорожденных погибших в асфиксии (Ю.В. Голиков, 1964, 1967). В случаях гибели новорожденных при явлениях прогрессирующей асфиксии в просвете альвеол, альвеолярных ходов и респираторных бронхиол видны многочисленные клетки слущенного эпителия, люминесцирующие различным цветом - от зеленого до тусклого зелено-оранжевого цвета. При внутриальвеолярных кровоизлияниях обнаруживаются большие скопления тусклых темнозеленых эритроцитов, среди которых четко видим светло-зеленые и светложелтые ядра лейкоцитов.

Отечная жидкость в воздухоносных путях люминесцирует от темно-зеленого до светло-зеленого цвета с заметной опалесценцией, местами хлопьевидная. Стенки сосудов, пропитанные жидкостью, выглядят набухшими, бесструктурными, часто разоволокненными.

При наличии отека в легких во многих альвеолах, заполненных отечной жидкостью, видны хлопьевидные массы, осевшие на стенках альвеол и альвеолярных ходов. Их свечение темно-

зеленое. Эти уплотнившиеся "осадки" в отечной жидкости по морфологической картине в обычном световом микроскопе подобны гиалиновым мембранам. Однако под люминесцентным микроскопом отчетливо видна их рыхло-мелкозернистая структура, тогда как гиалиновые мембраны люминесцируют ярким однородным изумрудно-зеленым цветом (рис.2). "Осадочные" образования отличаются бахромчатым краем. В некоторых альвеолах отчетливо виден переход этих осадков в более светло-зеленые хлопьевидные наслоения, переходящие, в свою очередь, в отечную жидкость. Гиалиновые же мембраны со стороны просвета альвеолы четко очерчены.

Кровоизлияния в соединительно-тканную строму выявляются с трудом, так как слабое свечение темно-зеленых эритроцитов теряется на фоне также темно-зеленого основного вещества рыхлой соединительной ткани. Скопления же лейкоцитов, воспалительные инфильтраты выявляются хорошо в силу яркого свечения ядер.

Таким образом, использование метода люминесцентной микроскопии при исследовании легких новорожденных позволяет в короткий срок, без сложной гистологической обработки материала составить представление о характере и степени гемодинамических расстройств, о наличии и распространении гиалиновых мембран, воспалительных процессов и, тем самым, целенаправлено выделить нужный участок легкого для электронномикроскопического исследования.

После выбора необходимого участка легкого для электронной микроскопии дальнейшая проводка материала производилась по схеме, описанной выше в разделе проводки экспериментального материала.

Параллельно взятию материала для электронномикроскопического исследования производился также забор материала для гистологического исследования с заливкой в целлоидин и парафин. Срезы ок-

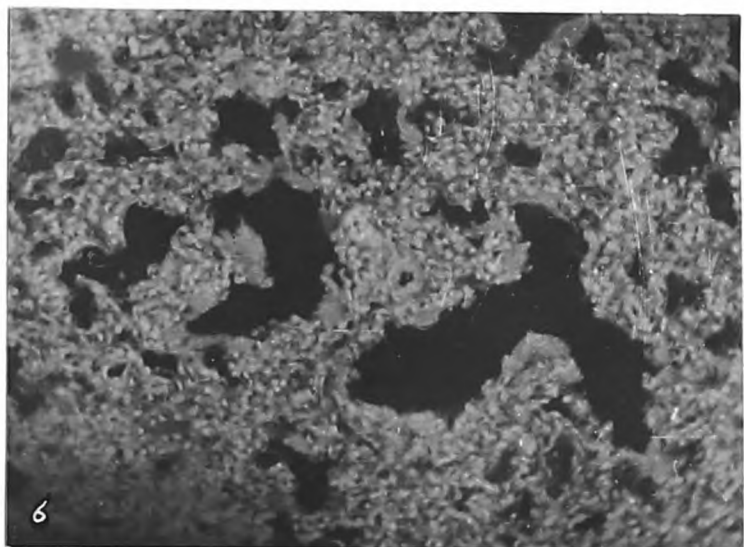
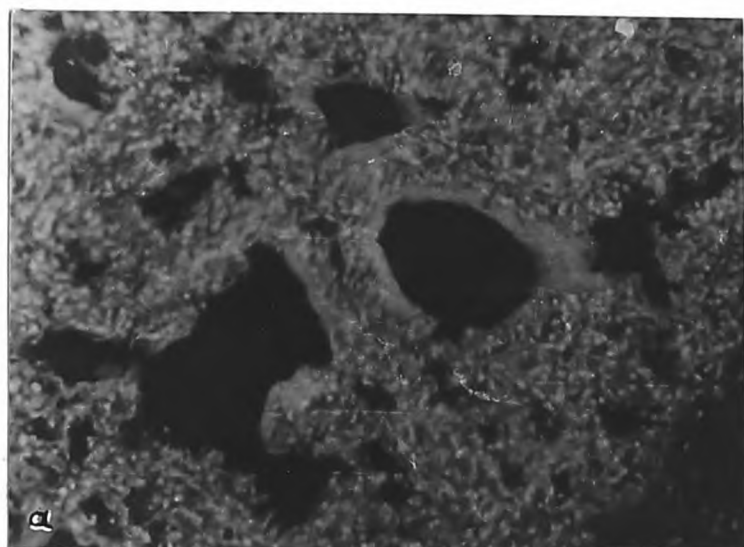


Рис. 2. Изумрудно-зеленое свечение глиановых мембран на стенке альвеол (а) и альвеолярных ходов (б) в легких недоношенного новорожденного. Флюорохромирование акридиновым оранжевым (1:10000) и корифосфином (1:1000) х 140

рашивались гематоксилин-эозином, пикрофуксином по методу ван-Гизон, а также импрегнировались серебром по модифицированному методу Фута.

Ультрамикротомирование

П р и г о т о в л е н и е н о ж е й для ультрамикротомирования. Для получения стеклянных ножей мы пользовались зеркальным листовым стеклом, толщиной в 5-6 мм, руководствуясь при выборе сорта стекла методическими указаниями В.Л.Боровягина (1958,1963).

Из предложенных методик изготовления ножей (*Latta и Hartman* 1950; В.Л.Боровягин с соавторами, 1958; Д.Пиз, 1963 и др.) мы пользовались методом *Tokujasu и Okamura*(1959), изменив только способ раскола стекла: после нанесения "риски-диагонали" раскол производили путем "растягивания" стекла с помощью двух плоскогопараллельных плоскогубцев.

Для контроля качества приготовленного ножа нами предложено использовать (Ю.В.Голиков, 1968) осветитель отраженного света ОИ-21. Лезвие ножа, укрепленного в специальном держателе (рис.3) окончательно просматривается при 600 х увеличении. Приготовленные ножи можно предохранить от загрязнения в течение нескольких дней, если хранить их под вакуумом в вакуумстате или просто под колоколом напылительной установки.

Для получения срезов использованы ультрамикротомы ЛКВ-Шестранд и ЛКВ-4801, а также отечественный ультрамикротом УМТП-1.

Однако, при работе на ультрамикротоме УМТП-1 были выявлены конструктивные недостатки, снижающие, по нашему мнению, возможности этого прибора.

Так, обратный (холостой) ход коромысла с объектодержателем осуществляется за счет ленточной пружины коромысла и за счет

двух пружин-подвесок. Но, даже при самой медленной линейной скорости резания, обратный ход коромысла происходит с резким толчком, что приводит к сотрясению всего прибора. Однако, как только коромысло при обратном ходе достигает верхнего крайнего положения, срабатывает концевой выключатель и снова начинается рабочий ход. Все это происходит быстро и, по-видимому, внутренние колебания системы, возникшие в результате толчка при обратном ходе, не успевают погаснуть, вследствие чего часто появляются вибрационные полосы на ультрасрезах или разрыв последних.

Для устранения указанного недостатка мы изменили скорость обратного (холостого) хода стержня. Это было достигнуто путем уменьшения (примерно на $2/3$) диаметра отверстия в обратном клапане поршня масляного демпфера. Уменьшение отверстия увеличило сопротивление при перепуске масла через обратный клапан при обратном ходе коромысла, что и замедлило ход последнего. Замедление линейной скорости при обратном ходе стержня не влияет на серийность и толщину ультрасрезов, так как обратный ход объекта осуществляется при снятом с пьезокристаллического блока напряжении, однако процентный выход годных срезов при этом увеличивается.

К о н т р а с т и р о в а н и е с р е з о в. Дополнительное контрастирование срезов проводилось с помощью цитрата свинца (Reynolds, 1963) и 2% спиртовым (15 мин.) и 2% водным (2 часа) растворами уранилацетата.

Изготовление коллодиевых пленок-подложек и их стабилизация углеродом

Метакрилатные ультрасрезы к предметным сеткам приклеиваются плохо. Поэтому их необходимо предварительно покрыть формваровой или коллодиевой пленкой. Для приготовления коллодиевой

пленки мы используем простую установку по принципу сообщающихся сосудов (рис.4): стеклянная чашка диаметром в 20 см соединяется резиновой трубкой через 3-х ходовой кран с тубусом с дистиллированной водой (Ю.В.Голиков, 1968).

Приготовление пленки: I. В чашке, на дно которой поставлена подставка с часовым стеклом диаметром в 6-8 см, уровень воды поднимается на 5-8 мм выше часового стекла. Через слой воды на стекле раскладываются предметные сетки и уровень воды повышается на 2-3 см. Дальнейший ход приготовления пленки осуществляется по общим правилам (В.И.Бирюзова, 1963 и др.).

2. После созревания (10-15 мин) коллодиевой пленки вода медленно сливается через кран и пленка опускается на предметные сетки.

Данное приспособление позволяет упростить, ускорить и уменьшить возможность загрязнения коллодиевой пленки по сравнению с другими способами ее приготовления (Г.С.Грицаенко с соавторами, 1961; Д.Пиз, 1963 и др.).

Известно, что коллодиевые пленки под действием пучка электронов колеблются, смещаются и даже разрываются. Для устранения этого недостатка было предложено напылять на пленку тонкий слой углерода (Bradley, 1954 и др.). Толщина напыляемого слоя определялась с помощью белой фарфоровой пластинки, с нанесенной на нее каплей специального масла. При напылении пластинка темнеет, но участок, покрытый каплей масла, остается белым и по контрасту оттенков можно судить об относительной толщине слоя углерода (Д.Пиз, 1963). Указанный способ контроля за толщиной напыляемого слоя углерода оправдывает себя в вакуумных установках с напылением сверху вниз. Однако в таких установках, как УВР, ЭВП-2 и

др., в которых напыление идет снизу вверх, этот способ контроля мало приемлем. Во-первых, весьма неудобно за короткий промежуток времени напыления одновременно наблюдать и за показаниями микроамперметра и за потемнением фарфоровой пластинки, напыляемая сторона которой обращена вниз. Во-вторых, по условиям техники безопасности стеклянный колпак установки во время работы приходится закрывать снаружи специальным защитным металлическим колпаком (установка ЭВП-2) с люком для наблюдения. Установленная на люке предохранительная сетка практически исключает возможность наблюдения за потемнением фарфоровой пластинки.

Для устранения этого недостатка, а также с целью получения стабильной толщины напыляемого слоя углерода, нами разработано следующее приспособление (Ю.В.Голиков, 1968).

В пульте управления вакуумного поста ЭВП-2 к клеммам выключателя "испаритель" подключается магнитный пускатель типа ПМ. Одна из катушка пускателя включается в сеть с помощью электронного реле времени типа "ЭВР". Таким образом, напряжение на автотрансформатор (ЛАТР-1), с помощью которого регулируется ток накала испарителей, может подаваться автоматически, на время от 0,5 до 50 сек. Это позволяет подобрать, при определенной силе тока, такое время напыления, которое обеспечивает необходимую толщину напыляемого углеродного слоя, при использовании одной и той же партии спектрально чистых угольных стержней. Напыление производится следующим образом.

Часовое стекло с предметными сетками, покрытыми коллодиевой пленкой, укрепляется на столике поворотного устройства кронштейна установки на расстоянии 15 см от угольных электродов. После достижения необходимого вакуума рукоятка автотрансформатора устанавливается в положение, обеспечивающее необходимую силу тока, а на ре-

ле времени устанавливается необходимое время напыления. Включением реле времени сетевой ток подается на катушку пускателя, последний срабатывает, цепь накала испарителей замыкается и происходит испарение угольных электродов в заданное время.

Микроскопирование

Ультрасрезы изучались в отечественных электронных микроскопах УЗМВ-100 "А", УЗМВ-100В, а также в японском микроскопе УЕМ-150.

При микроскопировании большое внимание уделялось тщательной градуировке увеличений электронного микроскопа по дифракционным решеткам с различным числом линий на 1 мм.

Для фотографирования употребляли диапозитивные фотопластинки чувствительностью от 0,5 до 2 единиц ГОСТа, а также ядерные пластинки типа МК и МР.

В работе демонстрируются электронные микрофотографии, под которыми указаны увеличения только электронного микроскопа.

Приспособление для хранения сеток с объектами

В практике электронной микроскопии часто встречается необходимость в более или менее длительном хранении сеток с объектами. В предложенных для этой цели планшетах из органического стекла (А.Н.Пилянкевич, 1961; С.Б.Стефанов, 1963; В.И.Бирюзова и др., 1963; Ю.С.Тиняков, 1966) несколько десятков лунок с сетками прикрываются общей крышкой и, чтобы достать одну из сеток, необходимо сдвигать крышку над всеми лунками, что представляет определенные неудобства.

Для раздельного хранения сеток с объектами мы предложили

(Ю.В.Голиков, 1968) использовать имеющиеся в продаже обычные платяные кнопки диаметром в 10 мм, прикрепленные к деревянному планшету (рис.5). Гнезда таких кнопок позволяют хранить сетки диаметром в 2мм. Для хранения сеток диаметром в 3 мм можно использовать кнопки диаметром в 15-17 мм. Для большей уверенности в том, что опущенная в гнездо сетка не сомнется при закрывании кнопки, можно подпилить выступ верхней половинки кнопки и зазор между этим выступом и дном гнезда увеличится. Чтобы достать необходимую сетку достаточно, открыв кнопку, перевернуть планшет и сетка выпадет. Кажущееся неудобство в переворачивании планшета, восполняется его надежностью: сетки никогда не перепутаются, так как пружинная защелка надежно фиксирует верхнюю половину кнопки, а каждая из кнопок пронумерована.

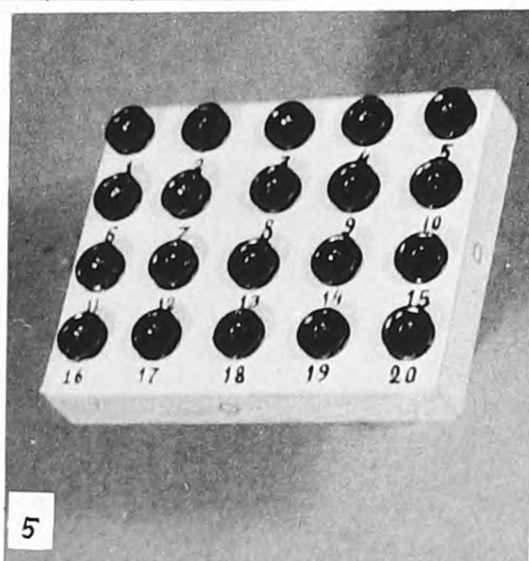
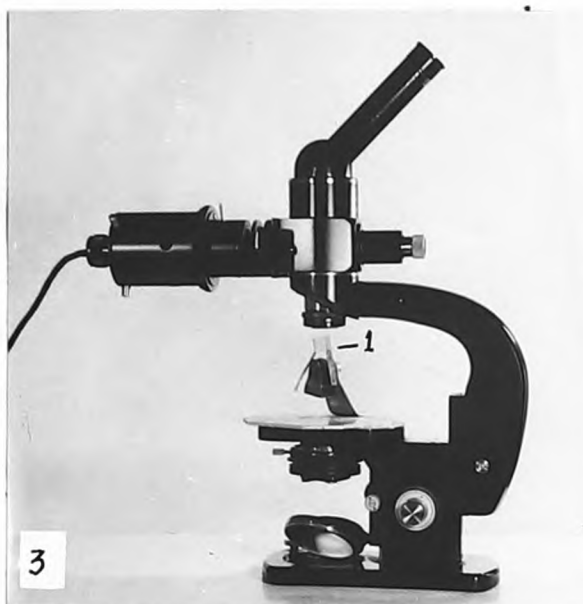


Рис. 3. Использование осветителя ОИ-21 с отраженным светом для проверки качества стеклянного ножа
1/ — стеклянный нож

Рис. 4. Приспособление для приготовления коллодиевой пленки.

- 1- тубус с дистиллированной водой
- 2- трехходовой кран со сливным шлангом;
- 3- чашка со столиком для предметных сеток.

Рис. 5. Планшет для хранения предметных сеток.

ГЛАВА III. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Последовательность изложения полученных результатов экспериментальных исследований в каждом разделе данной главы следующая:

1. Изменения ультраструктур клеток альвеолярной выстилки.
2. Изменения в воздушно-кровеносном барьере легких.
3. Изменения ультраструктур септальных клеток.
4. Изменения в соединительнотканной строме межалвеолярной перегородки.

I. Ультраструктура легких крысят контрольной группы

Под световым микроскопом в легких новорожденных крысят видны утолщенные межалвеолярные перегородки, содержащие клетки гистiocитарного, фибробластического и лимфоидного ряда (рис. 6). В довольно обильной периваскулярной соединительной ткани встречаются также плазматические и тучные клетки.

Стенки артериол утолщены, просвет их узкий. Стенки капилляров, выступающих в просвет альвеол, видны в виде весьма тонкой, слабо окрашенной линии, без определяемого слоя цитоплазмы эндотелиальных клеток.

На альвеолярной стенке выявляются клетки, отличающиеся друг от друга степенью базофилии ядра и цитоплазмы. Одни из них имеют круглое ядро с выраженной базофилией, вокруг которого не всегда удается увидеть очень тонкий слой светлой цитоплазмы. Другие, в значительно меньшем количестве, чем первые, имеют менее базофильное ядро овальной формы и довольно обильную цитоплазму. В слегка базофильной цитоплазме этих клеток выявляется слабая зернистость (рис. 7). В некоторых из них цитоплазма имеет ячеистый вид.

При электронномикроскопическом исследовании легких у новорожденных крысят на альвеолярной стенке выявлен непрерывный, изменчивый толщины, цитоплазматический слой альвеолярной выстилки, лежащий на базальной мембране. В непрерывной альвеолярной выстилке обнаружены два основных типа клеток, отличающихся друг от друга следующими особенностями.

Первый тип клеток - это клетки, цитоплазма которых переходит в весьма длинные пластинчатые отростки, покрывающие альвеолярную стенку, а также те капилляры, которые выступают в просвет альвеол. Эти отростки, простираясь до соседних клеток, иногда наползая на них, образуют непрерывную выстилку альвеол. На всем протяжении под пластинчатыми отростками (ПО) видна базальная мембрана (БМ) в виде плотной гомогенной линии (рис.8).

Второй тип клеток (которые по размерам больше клеток первого типа) характеризуется наличием в их цитоплазме включений, отличающихся ультраструктурой от митохондрий и других органоидов клетки.

Эти включения имеют различную структуру и размеры. Одни из них овальной формы в виде довольно плотных осмиофильных телец (ОТ), ограниченных наружной мембраной и заполненных неясно различными пластинчато-нитчатыми структурами (рис.9).

Другие - овальной или сферической формы, весьма переменны в размерах (от 0,4-0,8 мк до 2-4 мк), ограничены плотной осмиофильной мембраной и имеющие внутри концентрически расположенные пластинки.

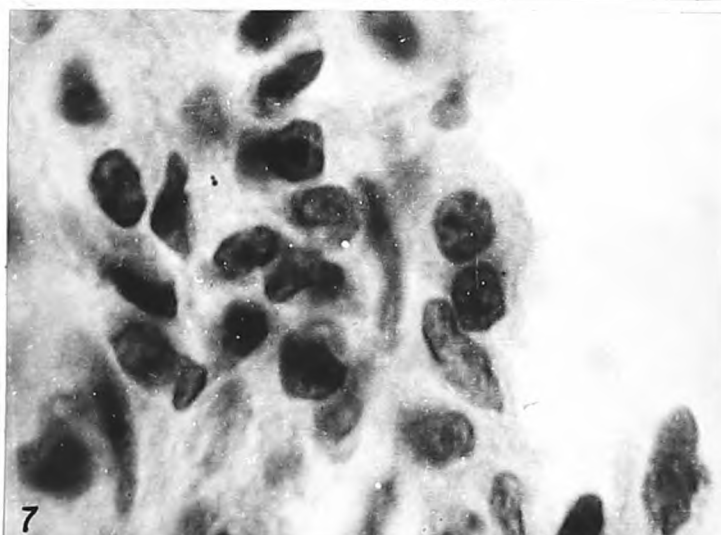
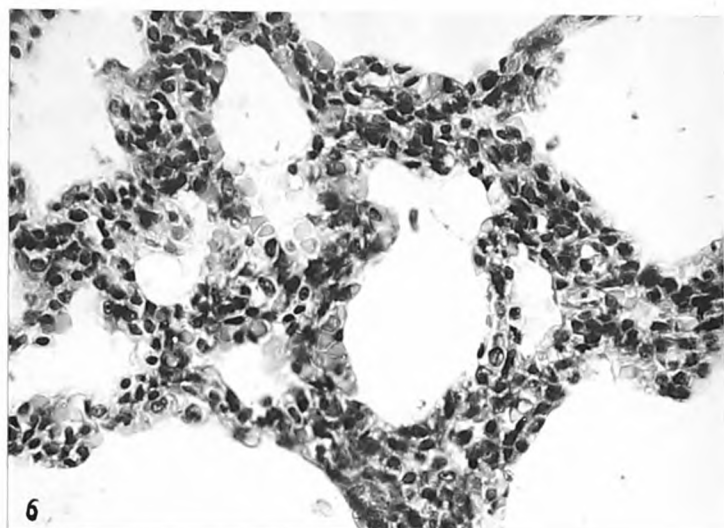


Рис. 6. Легкое крысенка.

Утолщенные меальвеолярные перегородки содержат клетки гистиоцитарного, фибробластического и лимфоидного ряда. Окраска гематоксилин-эозином; х 280.

Рис. 7. Альвеолярные клетки с различной степенью базофилии ядра и цитоплазмы в выстилке альвеол легкого крысенка. Окраска гематоксилин-эозином; х 1350.

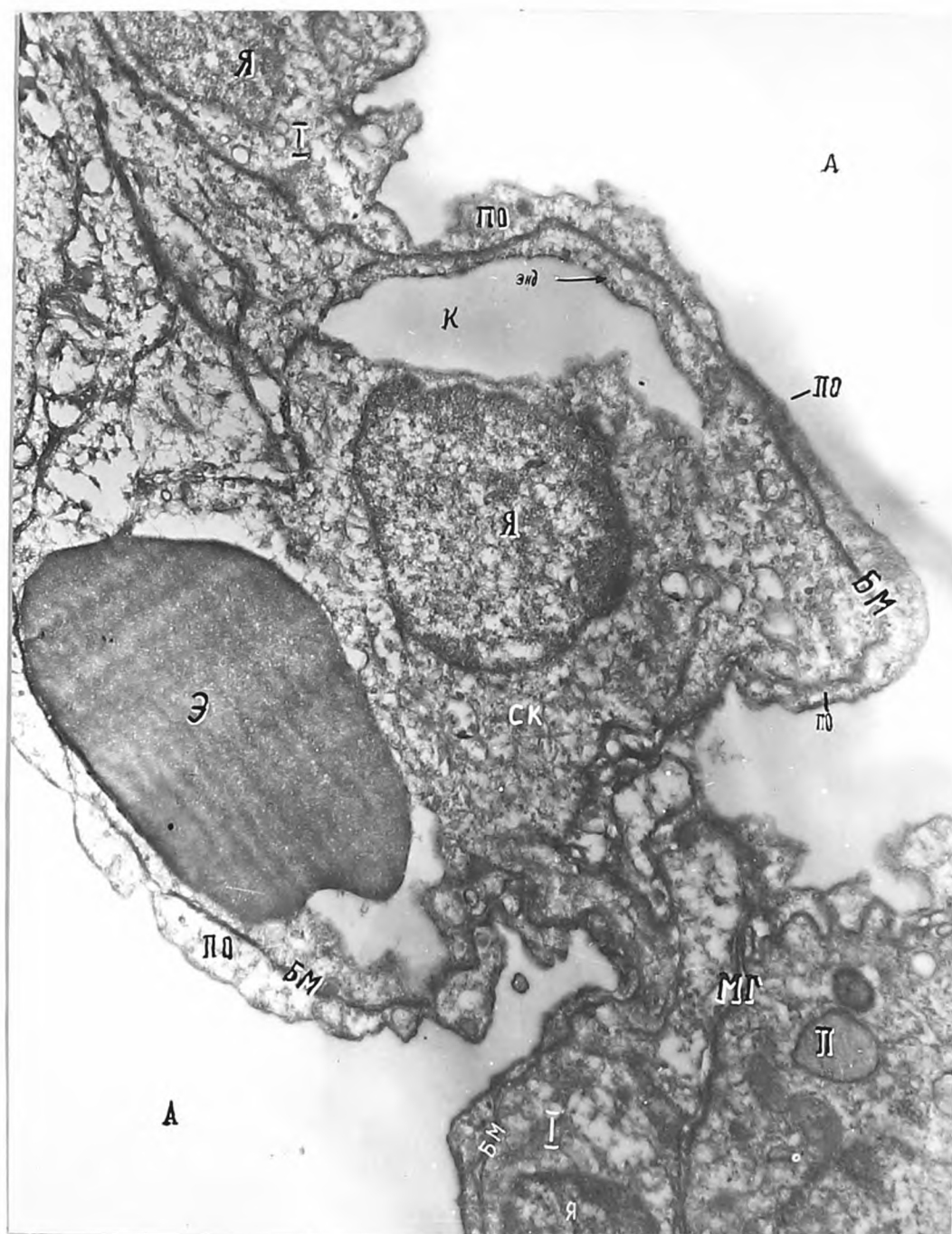


Рис. 8. Электронная микрофотография межалвеолярной перегородки в легком крысенка; х 4000

А-просвет альвеолы; I- альвеолярная клетка типа I, ПО - пластинчатый отросток альвеолярной клетки типа I; Энд- эндотелий; К- просвет капилляра; Я- ядро; СК- септальная клетка; II- альвеолярная клетка типа II; ПТ- пластинчатое тело; МГ- межклеточная граница; БМ- базальная мембрана; Э - эритроцит.

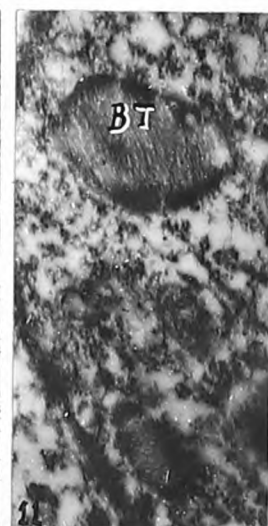
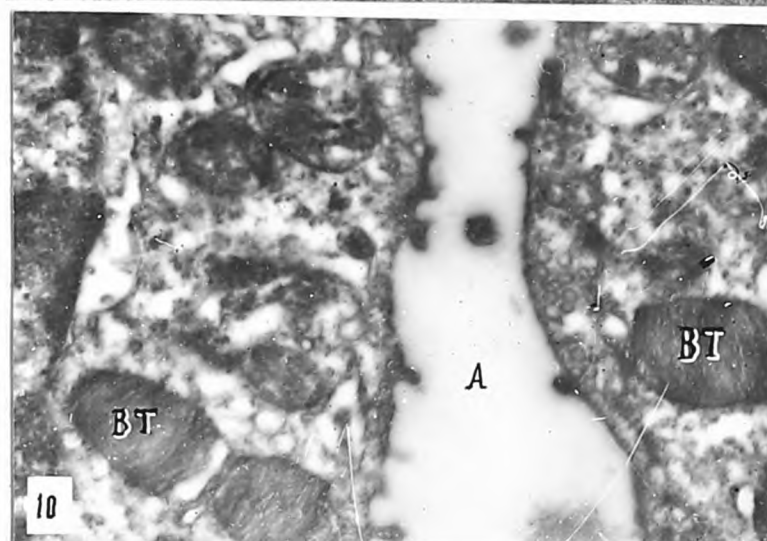
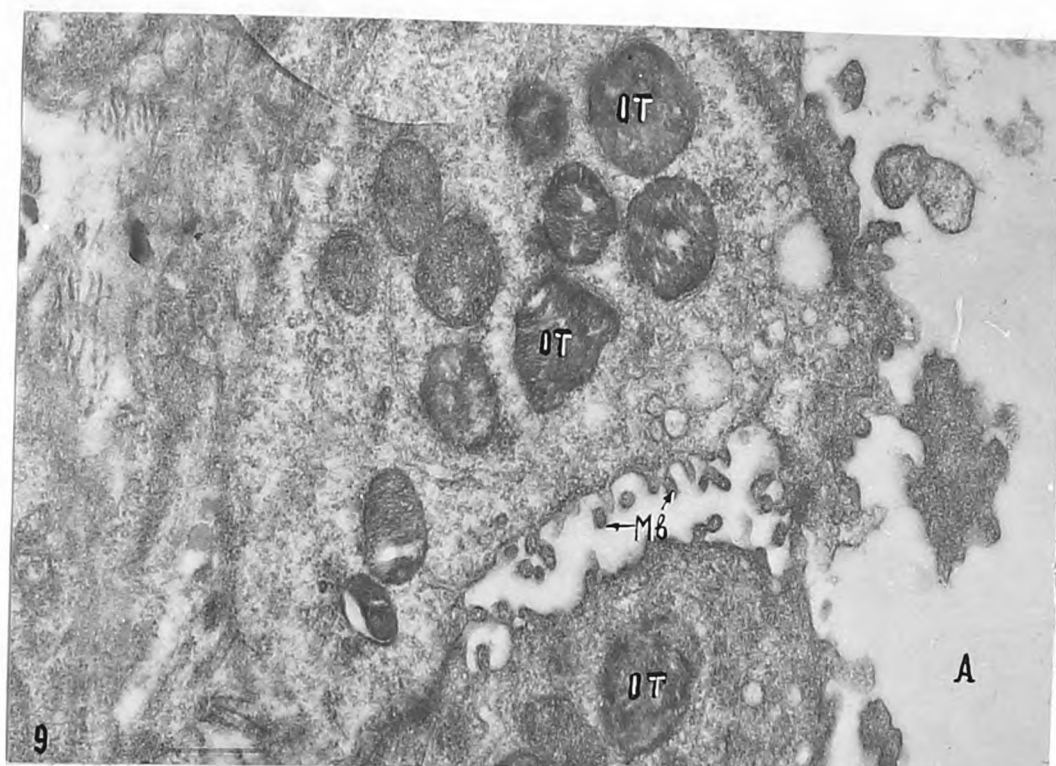
Однако наиболее часто встречаемая форма - это овальные или сферические тельца от 0,3-0,5 до 2-4 мк, ограниченные не всегда четкой оболочкой и заполненные войлокообразным содержимым (рис. IО и II, ВГ). Чаще всего такие включения заполнены очень тонкими, несколько извилистыми и параллельно идущими нитевидными пластинками (рис. II). Встречаются также включения, содержание которых напоминает клубок войлочных нитей.

Ядра альвеолярных клеток типа I и типа II чаще имеют правильную сферическую форму, но иногда видны ядра удлиненной формы, имеющие внутренние углубления ядерной оболочки. Оболочка ядер двойная, имеет наружный и внутренний листки, между которыми образуется узкое перинуклеарное пространство (ПП). Плотные глыбки ядерного хроматина разбросаны в нуклеоплазме (рис. I2).

Митохондрии в альвеолярных клетках выявлены типичной структуры: двойная наружная мембрана, двойные внутренние мембраны (крысты), имеющие и поперечное и косое направление. Основное вещество (матрикс) митохондрий электроннооптически более плотное, чем матрикс цитоплазмы клеток, и в нем видны различной плотности мелкие гранулы (рис. I3).

В альвеолярных клетках типа II митохондрии более многочисленны и расположены без определенной локализации в цитоплазме. Они также овальной или удлиненной формы, но весьма переменны в размерах.

Необходимо подчеркнуть, что не только в разных альвеолярных клетках, но и даже в пределах одного участка одной какой-либо клетки довольно часто видны митохондрии, резко отличающиеся друг от друга размерами и структурой. Так, наряду с интактными митохондриями соседствуют сильно набухшие, с почти исчезнувшими кри-



Специфические включения в альвеолярных клетках типа II в легком крысёнка.

Рис. 9. Различная форма и размеры осмиофильных телец (OT);
x 8000
А- альвеола; Мв- микроворсинки; В-вакуоли; Р- рибосомы.

Рис.10. Войлокообразные тельца (BT); x 8000

Рис.11. Нитевидные пластинки в войлокообразном тельце;
x 12000.

стами и просветленным матриксом митохондрии. Между этими двумя крайностями видны митохондрии с различной степенью набухания, изменения крист, просветления матрикса.

В альвеолярных клетках типа II наряду с митохондриями обнаружены цитоплазматические частицы сферической формы. Эти частицы характеризуются наличием однослойной плотной наружной мембраны. Содержимое частиц состоит из плотных мелких зерен или из зерен и мелких пузырьков, окруженных зоной с меньшей электронной плотностью, чем наружная оболочка и сами частицы. Эти частицы мы рассматриваем как лизосомы (рис. 13 и 14, Д). В альвеолярных клетках типа I подобные частицы нами не обнаружены.

Наряду с вышеописанными двумя типами клеток альвеолярной выстилки в ней, в сравнительно небольшом количестве, обнаружены клетки характеризующиеся ядрами с очень неровными контурами, с обильной светлой цитоплазмой, образующей различной величины и формы выпячивания, типа псевдоподий. В цитоплазме этих клеток, наряду с митохондриями, жировыми каплями и очень осmioфильными овальными включениями, видны также пластинчато-и войлокообразные тельца, описанные в клетках типа II.

Ультраструктура воздушно-кровеносного барьера легких у крысят первых суток жизни представлена на рис. 15.

Со стороны просвета альвеолы (А) стенка капилляра покрыта сплошным непрерывным цитоплазматическим слоем пластинчатого отростка (ПО) альвеолярной клетки типа I (рис. 15). Нам не удалось наблюдать соединения двух пластинчатых отростков на стенке капилляра. Наоборот, каждый из отростков клетки полностью обгибает петлю капилляра и доходит до соседней клетки. Однако на стенке альвеолы, вне петли капилляра, иногда видно соединение

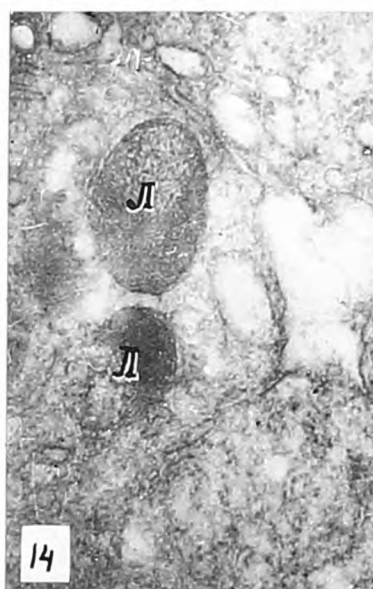
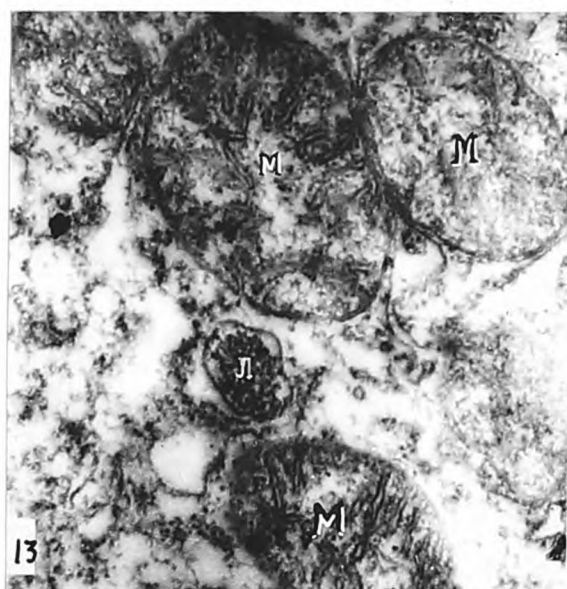
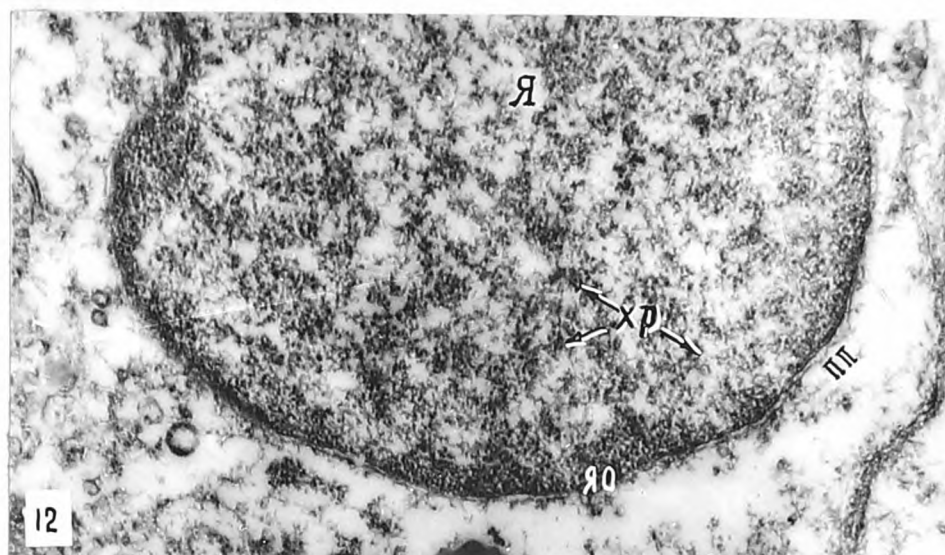


Рис. 12. Ядро альвеолярной клетки; $\times 12000$.
Хр- зерна хроматина; яо- ядерная оболочка; пп- перинуклеарное пространство.

Рис. 13. Структура митохондрий (М) в альвеолярных клетках; $\times 36000$.

Рис. 14. Лизосомы (Л) в альвеолярной клетке; $\times 25000$.

двух отростков путем наложения уплощенного конца одного отростка на другой.

Под пластинчатыми отростками, как правило, видна базальная мембрана альвеолярной выстилки. Она либо полностью сливается с базальной мембраной эндотелиальных клеток, либо отделена от последней изменчивой величины соединительнотканым пространством (рис. I6).

Со стороны просвета капилляра также виден непрерывный, очень изменчивой толщины, слой эндотелиальной выстилки. Очень часто на электронных микрофотографиях видны, иногда многократные, соединения эндотелиальных клеток путем наложения уплощенных участков одной клетки на другую (рис. I6, стрелки).

В цитоплазме альвеолярной и эндотелиальной выстилок в области воздушно-кровеносного барьера видны многочисленные, различного размера мелкие пузырьки (ПУ), ограниченные довольно плотной оболочкой (рис. I6, I7).

На рис. I7 в утолщенном участке цитоплазмы пластинчатого отростка альвеолярной клетки типа I видно образование, которое по размерам и структуре подобно войлокообразному тельцу (ВТ), описанному в альвеолярных клетках типа II.

При использованных разрешениях микроскопов (порядка 8-10A) нами не обнаружены поры в непрерывной выстилке альвеол. В самых тонких участках ее даже при небольших увеличениях микроскопа всегда виден слой цитоплазмы, лежащей на базальной мембране. Мы не обнаружили также сквозных отверстий ни в эндотелии, ни в базальных мембранах альвеолярной и эндотелиальной выстилок.

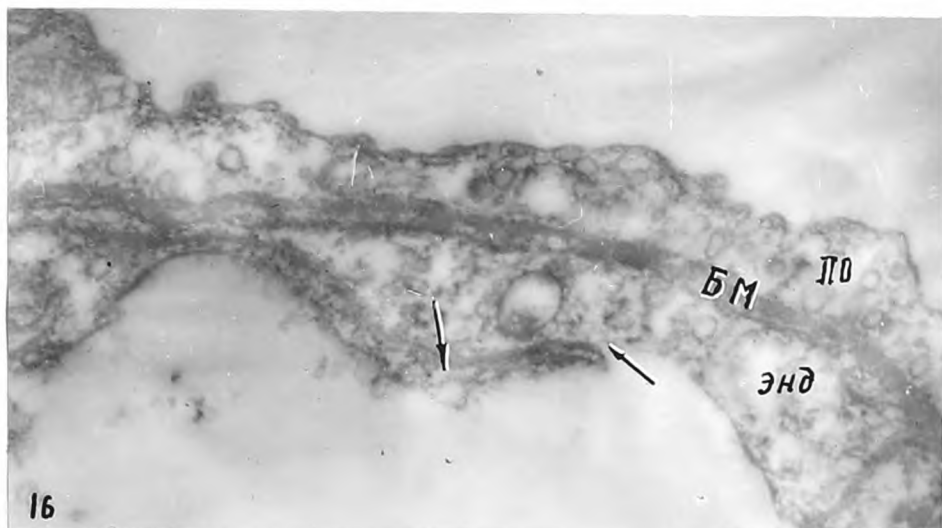
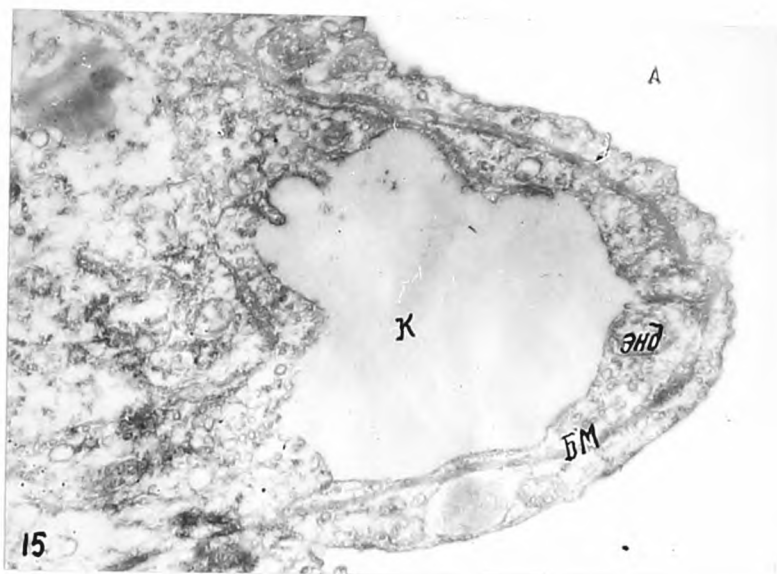


Рис. 15. Ультраструктура воздушно-кровеносного барьера в легком крысенка; $\times 12000$.

А- просвет альвеолы; К- просвет капилляра; Энд- эндотелий капилляра; БМ- базальная мембрана; ПО- пластинчатый отросток альвеолярной клетки типа I.

Рис. 16. Соединение эндотелиальных клеток путем наложения уплощенной части одной клетки на другую (показано стрелками); $\times 36000$.

(фрагмент рис. 15)

2. ДИНАМИКА ПОСМЕРТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ЛЕГКИХ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ И ПЛОДОВ ЧЕЛОВЕКА

Посмертные изменения в легких крысят
через 5 минут после декапитации

Ультраструктурная организация ткани легкого спустя 5 минут после смерти фактически не отличается от ультраструктуры свежезафиксированного легкого.

Посмертные изменения через 15 минут

Общая организация легочной ткани изменений не претерпела.

На рис.18, представляющим собой часть воздушно-кровеносного барьера легких крысенка, вместе соединения эндотелиальных клеток капилляра отчетливо просматриваются плотные линии плазматических мембран (ПМ), разделенных весьма узким, более светлым пространством. Это пространство имеет такую же электронную плотность, как и межмембранозное соединительнотканное пространство. Базальные мембраны четко просматриваются на ограниченном пространстве, что обусловлено, по-видимому, плоскостью среза. На этом же рисунке около ядра эндотелиальной клетки видны цистерны комплекса Гольджи (КГ).

Однако, в этом периоде уже появляются первые заметные признаки изменения ультраструктуры клеток. Они проявляются в ядрах клеток в виде разряжения ранее равномерно распределенного хроматина - в появлении "пустых" пространств в нуклеоплазме, разделяющих гранулы хроматина (рис.18, стрелки).

Таким образом, ультраструктура крысиных легких спустя 15 минут после смерти претерпела мало заметные изменения, касающиеся

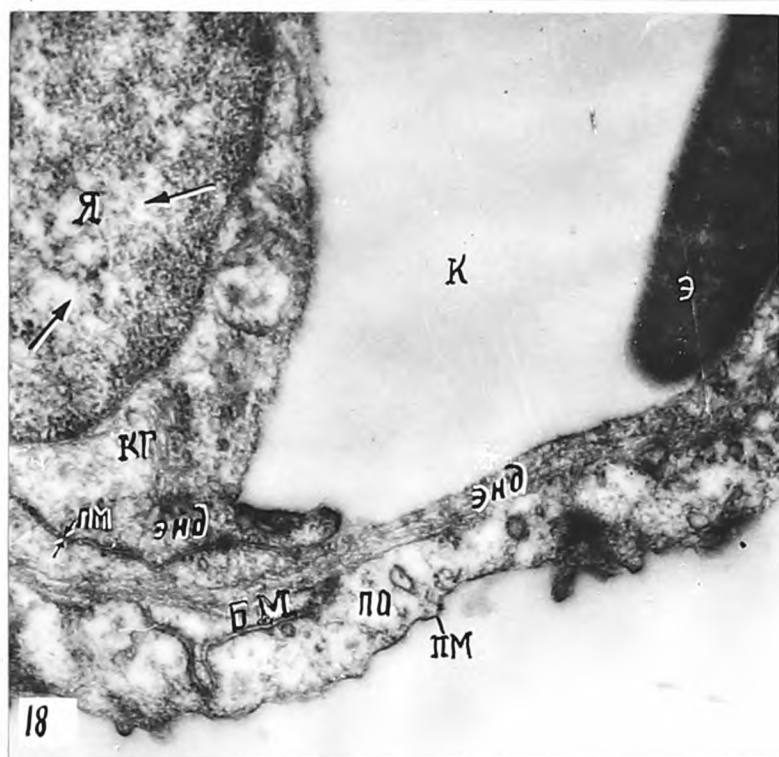
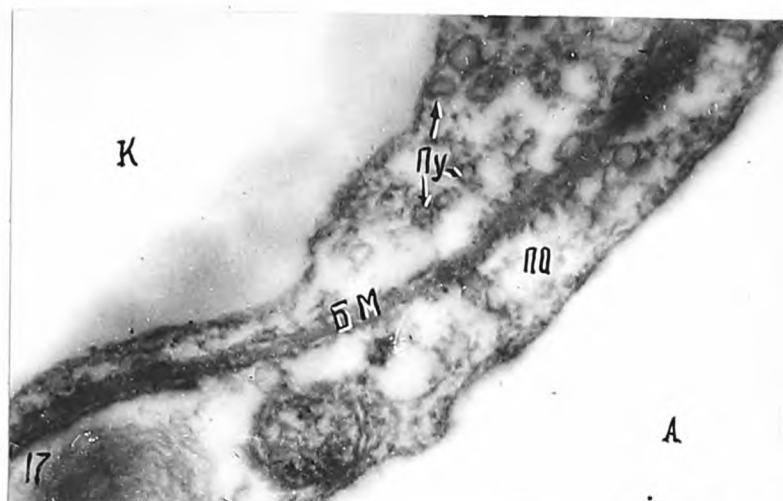


Рис. 17. Пиноцитозные пузырьки (Пу) в цитоплазме эндотелия и пластинчатого отростка; $\times 36000$.
(фрагмент рис.15).

Рис. 18. Участок воздушно-кровеносного барьера в легких крысенка, фиксированных через 15 мин. после смерти; $\times 13000$.
Заметно просветление нуклеоплазмы (показано стрелками) в ядре (Я) эндотелиальной клетки.

КТ- комплекс Гольджи; ПМ- плазматические мембраны эндотелиальных клеток в месте их соединения; БМ- базальная мембрана.

лишь хроматиновой субстанции ядра.

Посмертные изменения через 30 минут

В световом микроскопе посмертных изменений в легких не выявляется. В электронном микроскопе в альвеолярных клетках наиболее выраженные изменения видны в ядрах: просветление нуклеоплазмы и склеивание зерен хроматина в глыбки и комочки нарастает. Хроматин начинает скапливаться под ядерной оболочкой в плотные гомогенные участки (рис.19, ХР). Однако даже при средних увеличениях микроскопа отчетливо видно, что уплотнившиеся участки хроматина состоят из отдельных гранул, многие из которых имеют такие же размеры, как и рибосомы (Р), разбросанные в цитоплазме клетки (рис. 19,20).

Ядерная оболочка большинства клеток не изменена, но в некоторых клетках она местами нечеткая, со слиянием наружного и внутреннего ее листков или с локальными расширениями перинуклеарного пространства (рис.19, ПП).

Рибосомы, разбросанные в цитоплазме клеток, имеют обычную плотность, но в некоторых клетках видны скопления их в комочки или короткие цепочки, состоящие из нескольких рибосом. Подобные скопления рибосом более осмиофильны, чем одиночные рибосомы. Они имеют такую же плотность, как и скопившиеся гранулы хроматина на периферии ядер (рис.20).

В эндоплазматическом ретикулуме иногда видны локальные расширения канальцев и цистерн.

Ультраструктура митохондрий не претерпела заметных изменений и они по-прежнему полиморфны - от сферических и палочковидных (рис.19) - до митохондрий, наружная мембрана которых теряет двухконтурность. Она выглядит в виде неровной, состоящей из плот-

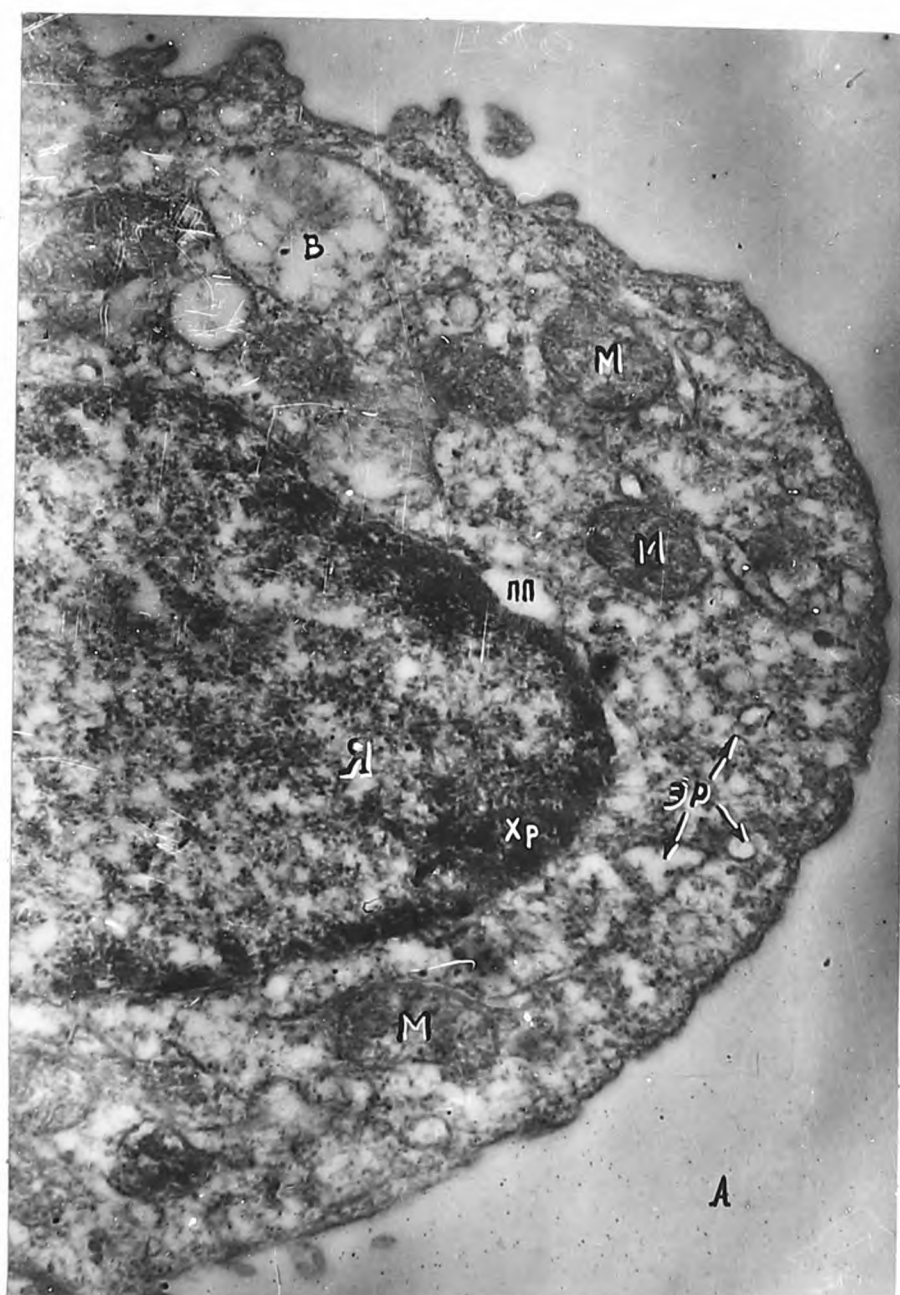


Рис. 19. Изменения в альвеолярной клетке типа II через 30 минут после смерти крысенка (описание в тексте);
х 10000.

Эр- эндоплазматический ретикулум; М- митохондрии;
В- вакуоли; Пп - перинуклеарное пространство.

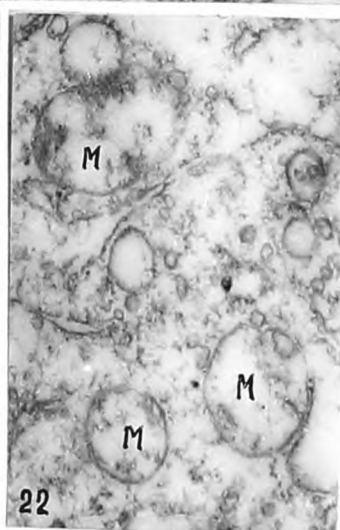
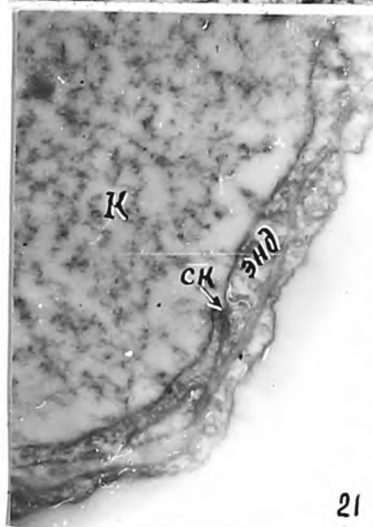
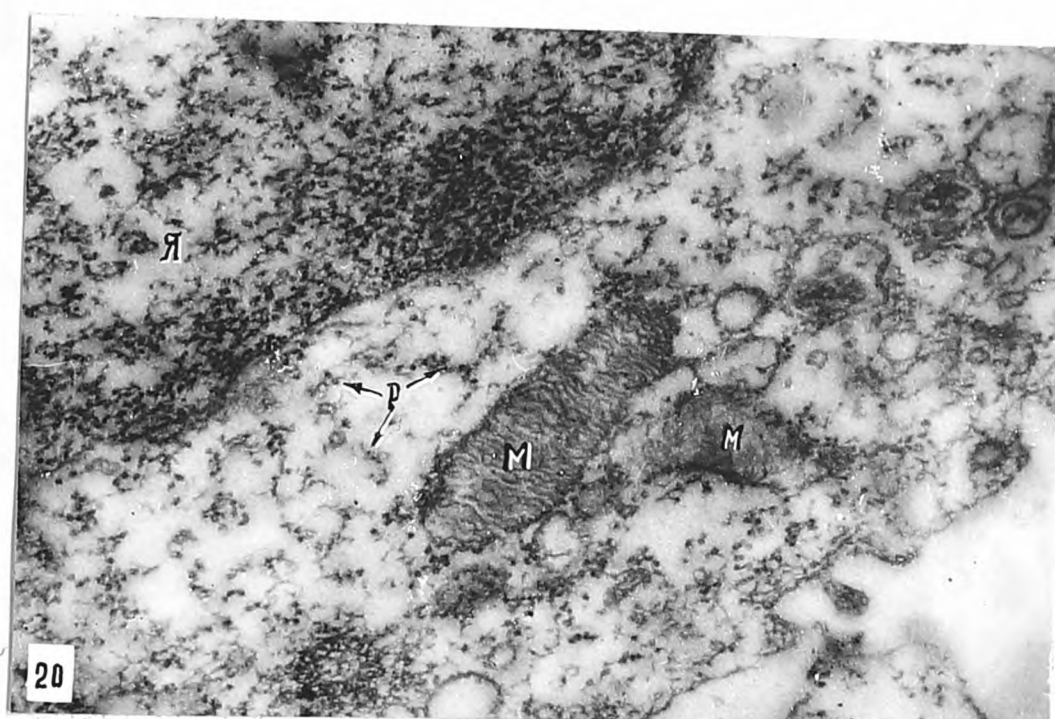
ных глыбок, линии. Внутреннее пространство подобных митохондрий заполнено слившимися кристами, но плотность матрикса почти не изменена (рис. 20). Однако необходимо отметить, что в данном периоде в матриксе многих митохондрий различных клеток уже заметна убыль плотных зернышек. В препаратах, полученных из легких в первые 5-15 минут после смерти этого явления не отмечалось.

Ультраструктура воздушно-кровеносного барьера легких, исследованных через 30 минут после смерти, практически не отличается от таковой в легких, исследованных спустя 5 минут после смерти. На большинстве электронных микрофотографий четко дифференцируются все структуры воздушно-кровеносного барьера (рис. 21).

Септальные клетки, их внутриклеточные органоиды не претерпели выраженных повреждений, за исключением ядер, изменения в которых аналогичны описанным изменениям в ядрах альвеолярных клеток. В септальных клетках также отмечается "мозаичность" в ультраструктуре митохондрий. Однако в них, по сравнению с альвеолярными и эндотелиальными клетками, сравнительно чаще видны митохондрии с сильно просветленным матриксом, фрагментированными или полностью распавшимися кристами (рис. 22). Очень редко встречаемые среди митохондрий (или отдельно) лизосомы имеют неповрежденную оболочку (рис. 23).

Начиная с данного срока посмертных изменений нами, параллельно с крысиными легкими, исследовались легкие 18-20 недельных плодов человека, полученных путем операции кесарева сечения.

Учитывая фетальную структуру легкого при данных сроках беременности, мы основное внимание обратили на изменение митохондрий и других внутриклеточных органоидов в различных клетках



Посмертные изменения через 30 минут (легкое крысенка)

Рис. 20. Пластинчатые митохондрии (М) и скопления рибосом (р) в виде коротких цепочек; х 25000.

Рис. 21. Участок воздушно-кровеносного барьера; х 10000.
СК- соединение эндотелиальных клеток.

Рис. 22. Изменение митохондрий по типу набухания; х 12000.

Рис. 23. Лизосома (Л) с неповрежденной оболочкой; х 12000.

ках легкого.

При анализе электронных микрофотографий легких плодов человека спустя 30 минут после смерти, практически обнаружены те же самые изменения ультраструктур клеток, что и в эксперименте. В различных клетках легочной ткани плодов человека также выявляется выраженный полиморфизм в размерах и ультраструктуре митохондрий. Однако, по сравнению с крысиными легкими, в них сравнительно редко обнаруживаются митохондрии, подобные показанным на рис. 20, а также не обнаружены пластинчато-волоконистые включения, описанные в альвеолярных клетках типа II.

Таким образом, спустя 30 минут после смерти, как в крысиных легких, так и в легких плодов человека, наиболее заметные изменения ультраструктуры обнаруживаются в ядрах клеток. Они проявляются в просветлении нуклеоплазмы и скоплении зерен хроматина под ядерной оболочкой.

Посмертные изменения через I час

В гистологических препаратах заметных посмертных изменений в структуре альвеолярных и септальных клеток не обнаруживается.

Электронномикроскопически в легких крыс, спустя один час после смерти, у клеток альвеолярной выстилки, обращенных в просвет альвеол, обнаруживается неповрежденная плазматическая мембрана. Она выглядит неповрежденной также на микроворсинах и более крупных выпячиваниях (типа псевдоподий) цитоплазмы клеток.

Форма ядер в большинстве альвеолярных клеток не изменена, сохраняется их двухконтурная оболочка. Локально видны незначительные расширения перинуклеарного пространства. Однако в некоторых клетках уже появляются ядра с неровными контурами, места -

ми не четкой оболочкой ядра, с плохо определяемым перинуклеарным пространством. В таких ядрах просветление нуклеоплазмы и уплотнение хроматина под оболочкой ядра более заметно (рис. 24).

Основное вещество (матрикс) цитоплазмы по-прежнему выглядит совершенно гомогенным, бесструктурным, с относительно низкой электронной плотностью.

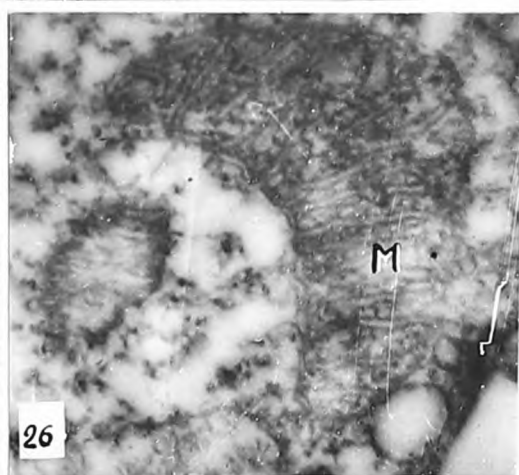
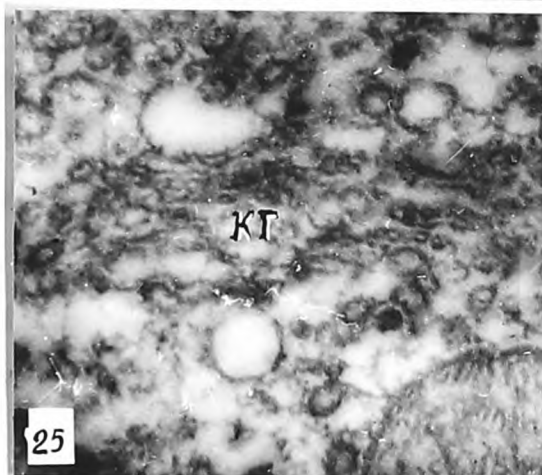
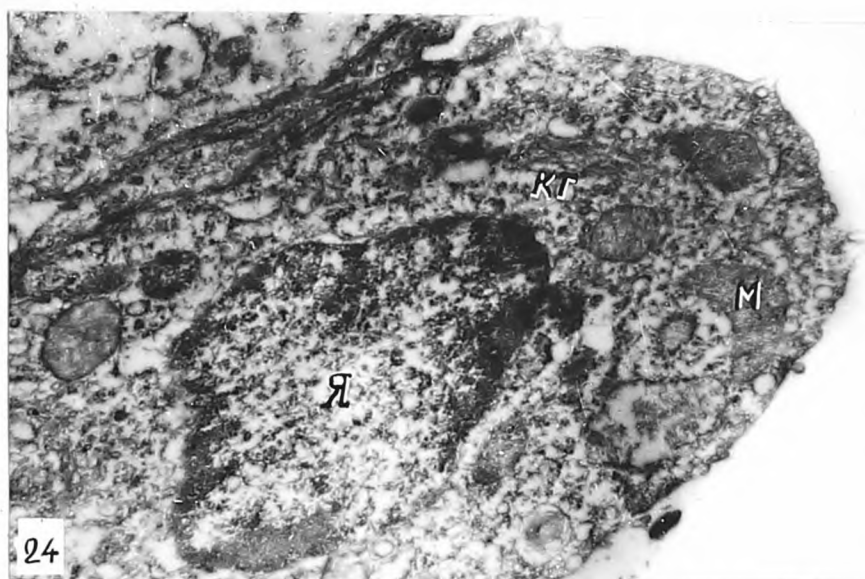
Появляется группирование рибосом в цитоплазме клеток. Оно более выражено, чем в предыдущих препаратах, но без заметного уменьшения количества рибосом.

Агранулярные и гранулярные элементы эндоплазматической сети в одних клетках выглядят не измененными, в других видны заметные расширения канальцев и цистерн этой сети, но еще без образования больших вакуолей.

Комплекс Гольджи (КГ) имеет обычную структуру, без заметного набухания и потери плотности содержащегося в нем цистерн, уплощенных мешочков, пузырьков и мелких вакуолей (рис. 25).

Митохондрии в альвеолярных клетках по-прежнему полиморфны в своей ультраструктуре. Однако уже в большем количестве клеток видны несколько удлинённые неправильной формы митохондрии, имеющие пластинчатое строение, без выраженной двойной наружной оболочки. На рис. 26, представляющим фрагмент рис. 25 при большем увеличении, в митохондриях отчетливо видны параллельно идущие многочисленные двойные перегородки. Толщина плотных линий этих перегородок и ширина их внутреннего пространства заметно больше, чем у "интактных" митохондрий. Характерно, что плотность матрикса у подобных митохондрий почти не изменена.

Во многих альвеолярных клетках, особенно типа II, наряду с митохондриями, имеющими пластинчатое строение, встречаются боль -



Посмертные изменения через I час (легкое крысенка).
Рис. 24. Ультраструктура альвеолярной клетки типа II;
x 12000.

Рис. 25. Комплекс Гольджи (КТ); x 36000
(фрагмент рис.24).

Рис. 26. Изменение митохондрий по типу пластинчатого
преобразования; x 36000.
(фрагмент рис. 24).

шие неправильной формы вакуоли, ограниченные нечеткой оболочкой. Они заполнены гомогенным бесструктурным веществом, с плотностью меньшей (более светлой), чем матрикса митохондрий, но плотнее окружающего эти вакуоли матрикса цитоплазмы клетки. В этом веществе как бы взвешены бесформенные частицы, напоминающие фрагменты распавшихся вышеописанных митохондрий (рис. 24, В).

Ультраструктура специфических включений в альвеолярных клетках типа II также полиморфна. На рис. 27, представляющим участок этой клетки, видны различные включения подобного рода. Неправильной формы войлокообразное тельце (ВТ) заполняет большую часть вакуоли без оболочки. Другое тельце, меньших размеров, расположено в светлом содержимом вакуоли (В), отграниченной от цитоплазмы нечеткой оболочкой. Некоторые включения (М) напоминают вышеописанные митохондрии, но с менее четко определяемыми и редкими поперечными перегородками.

Видны также образования (П), напоминающие лизосомы, но без оболочки. Лизосомы же с четкими однослойными оболочками при данном сроке посмертных изменений обнаруживаются редко.

Воздушно-кровеносный барьер легких крыс в течение первого часа после смерти не претерпел заметных изменений.

На рис. 28 представлен участок воздушно-кровеносного барьера легких крысенка. Плазматическая мембрана (ПМ) цитоплазматических отростков альвеолярных клеток типа I, а также эндотелиальных клеток четкая, без разрывов. Менее четко (на данном рисунке) просматривается базальная мембрана (БМ). Хорошо видны многочисленные мелкие пузырьки (ПУ) в цитоплазме эндотелиальной и альвеолярной выстилок. В просвете капилляра находится эритроцит типичной электронной плотности. Некоторая волнистость его поверх -

ности обусловлена процессом резки на ультрамикротоме.

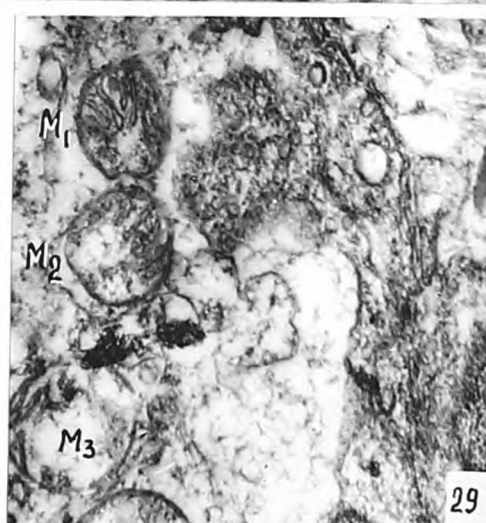
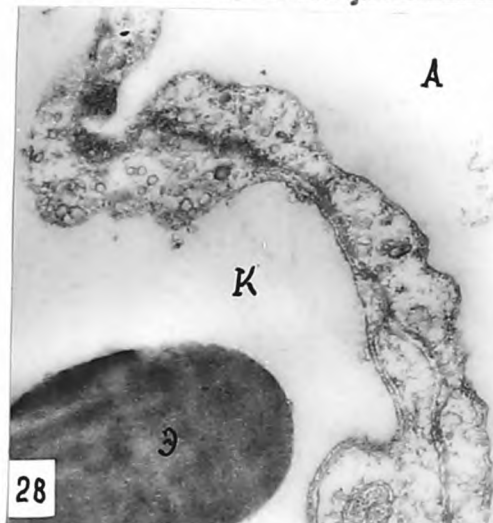
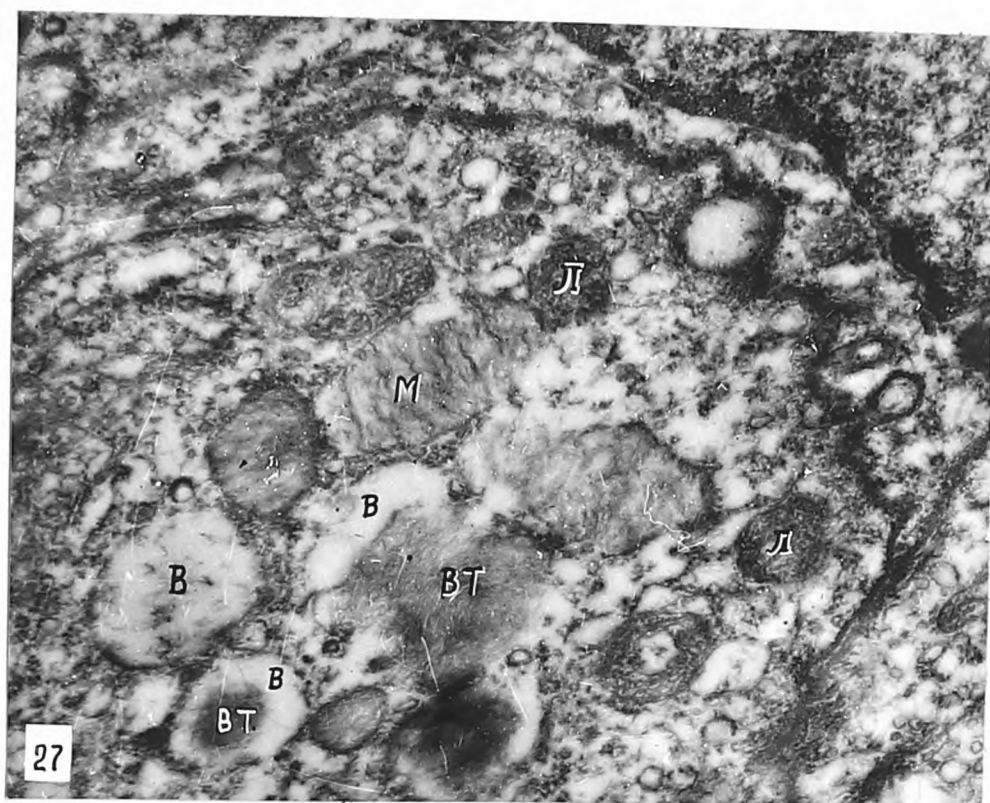
При данном сроке посмертных изменений мы не обнаружили заметного набухания цитоплазмы эндотелиальных и альвеолярных клеток в области воздушно-кровеносного барьера.

В септальных клетках наиболее заметные изменения видны в ультраструктуре ядер. Просветление нуклеоплазмы, конгломерирование и уплотнение хроматина под оболочкой ядра в этих клетках выражены в той же степени, что и в альвеолярных и эндотелиальных клетках.

Митохондрии септальных клеток также весьма полиморфны в своей ультраструктуре. Это хорошо видно на рис. 29, где внешний вид митохондрий отражает, по-видимому, различные стадии прижизненного функционального состояния. Митохондрия в верхней части рисунка имеет обычный интактный вид. Другая с признаками набухания: округление тела, заметное просветление матрикса, искривление крист. Третья митохондрия сильно набухшая, с резким просветлением матрикса, с тонкой наружной оболочкой, под которой видны остатки разрушенных крист (рис. M_1 , M_2 , M_3). Других изменений в ультраструктуре клеток не отмечено.

Так, на рис. 30 представлен участок септальной клетки, в котором виден клеточный центр типичной структуры: две центриоли (Ц) ограничены вверху элементами комплекса Гольджи (КГ). Уплотненные и подковообразно загнутые цистерны и разбросанные вокруг них мелкие вакуоли комплекса Гольджи заполнены содержимым обычной электронной плотности. Центриоли ограничены стенкой очень высокой электронной плотности, а просвет заполнен светлым содержимым, близким по плотности к окружающей цитоплазме клетки.

На рис. 31 виден участок клетки фибробласта, содержащий развитую сеть гранулярного эндоплазматического ретикулума (эргасто-

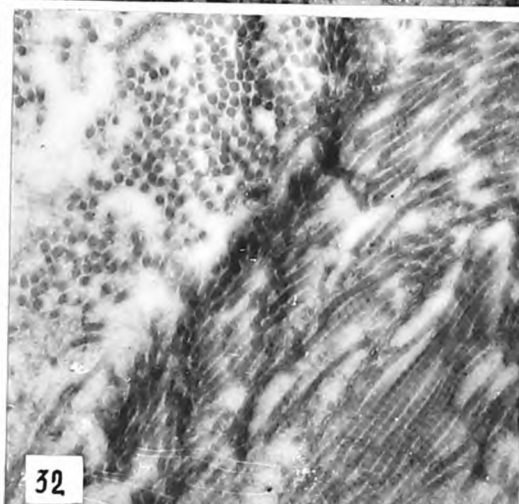
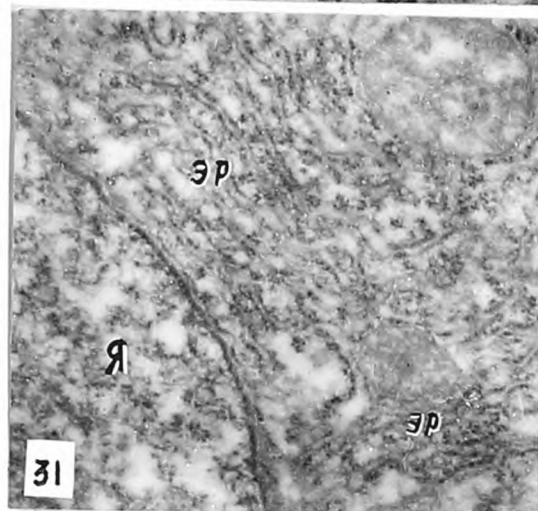
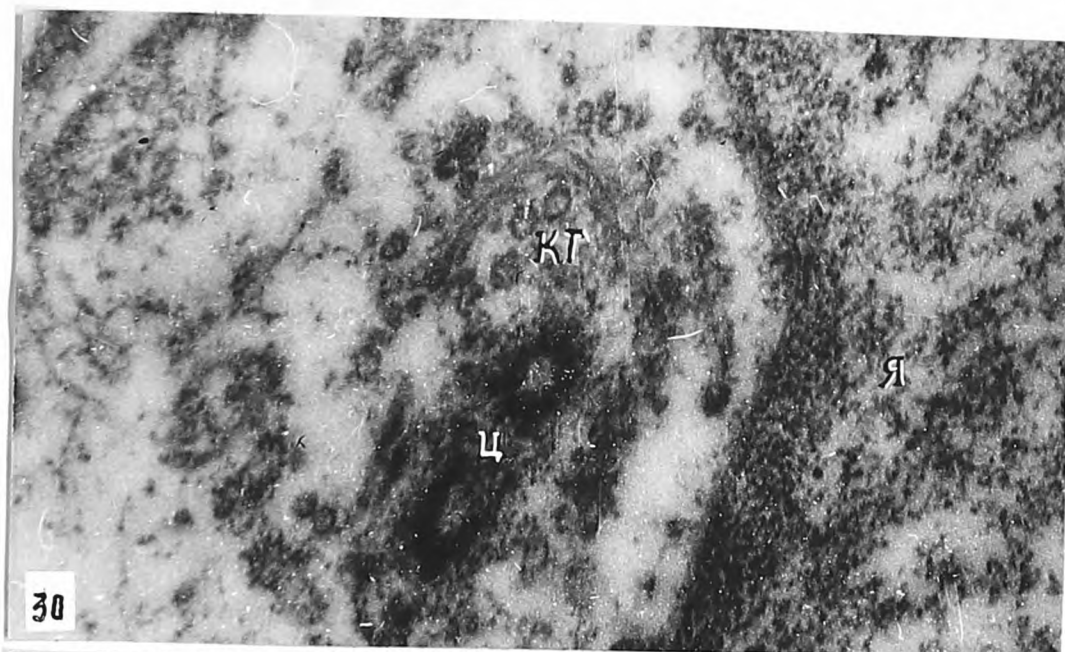


Посмертные изменения через I час (легкие крысенка)

Рис. 27. Участок альвеолярной клетки типа II; $\times 12000$.

Рис. 28. Участок воздушно-кровеносного барьера, содержащий в цитоплазме эндотелия (энд) и пластинчатого отростка (ПО) пиноцитозные пузырьки (Пу); $\times 12000$.

Рис. 29. Полиморфизм в изменении ультраструктуры митохондрий; $\times 12000$.



Посмертные изменения через I час (легкое крысенка).

Рис. 30. Клеточный центр септальной клетки; $\times 13000$.

Ц-центриоли; КГ- комплекс Гольджи; Я-ядро.

Рис. 31. Участок клетки фибробласта с гранулярным эндо-
плазматическим ретикулумом (ЭР), $\times 24000$.

Рис. 32. Ретикулиновые волокна; $\times 15000$.

плазма). Стенка не расширенных канальцев (ЭР), заполненных гомогенным веществом обычной плотности, снаружи усеяна очень плотными рибонуклеопротеидными частицами-гранулами Паладе (1952). Видна также часть ядерной оболочки (ЯО) типичного строения и набухшая митохондрия с деформированными кристами и просветленным матриксом, но с целой двухконтурной наружной оболочкой.

В строме альвеолярной перегородки не обнаружено заметных изменений волокнистых структур: редкие ретикулиновые и другие волокна имеют обычное строение.

На рис. 32 представлена ультраструктура ретикулиновых волокон. Видны волокна пересеченные продольно, наискось и поперечно пересеченные волокна. В продольно пересеченных волокнах заметна поперечная исчерченность.

При анализе электронных микрофотографий легких плодов человека также не обнаружено заметных повреждений ультраструктур клеток. В различных клетках по-прежнему выявляется выраженный полиморфизм в ультраструктуре митохондрий.

Таким образом, при электронномикроскопическом исследовании легких крыс и плодов человека первые наиболее заметные изменения появляются в хроматиновой субстанции ядер различных клеток. Эти изменения в течение первого часа после смерти нарастают.

Ультраструктура клеток альвеолярной и эндотелиальной выстилок, септальных клеток и стромы межальвеолярной перегородки выраженных изменений не претерпевает.

Посмертные изменения через 3 часа

Под световым микроскопом^В отдельных участках легкого обнаруживаются очаговые утолщения межальвеолярных перегородок, в кото-

рых видны скопления эритроцитов. Как в альвеолярных, так и в септальных клетках встречаются повышено базофильные пикнотичные ядра. В некоторых клетках отмечается кариорексис. Однако выявленные изменения не характерны. Они видны также в легких крысят контрольной группы.

В электронном микроскопе спустя 3 часа после смерти выявлена следующая картина.

Форма и размеры альвеолярных клеток не претерпели заметных изменений. Межклеточные границы, в местах сближения альвеолярных клеток, четкие, без расширения пространства между плазматическими мембранами соприкасающихся клеток. Плазматическая мембрана в участках клеток, выступающих в просвет альвеол, без разрывов, но менее четкая, особенно со стороны цитоплазмы клеток (рис.33, ПМ). Микроворсинки у альвеолярных клеток обнаруживаются сравнительно редко и имеют вид коротких, неправильных выпячиваний цитоплазмы (рис.33, МВ).

В ядрах клеток ранее отмеченные изменения нарастают, но в целом их вид в различных клетках весьма полиморфен.

Так, в одних ядрах гранулы хроматина склеиваются в бесформенные плотные комки, распределенные равномерно по всему ядру, что придает ему вид губки. Такие ядра сохраняют овоидную форму, но их оболочка приобретает несколько волнистый вид, с небольшими локальными расширениями перинуклеарного пространства (рис. 33, III). В других ядрах комкование хроматина почти не выражено, нет заметного скопления последнего под оболочкой ядра, но такие ядра выглядят разряженными: равномерно распределенные мелкие скопления зерен хроматина как бы взвешены в светлой нуклеоплазме. Перинуклеарные пространства у подобных ядер чаще и более



Рис. 33. Изменения в альвеолярной клетке типа II
через 3 часа после смерти крысенка;
х 10000
(описание в тексте)

расширены и заполнены совершенно светлым содержимым (рис. 34, обозначено стрелками).

Наряду с описанными ядрами видны также ядра, контуры которых неровные, имеется впячивание ядерной оболочки внутрь ядра. У таких ядер конгломерирование хроматина более выражено.

В эндоплазматическом ретикулуме альвеолярных клеток, в частности в его агранулярной форме, видны расширенные каналцы, которые в поперечном сечении приобретают вид мелких вакуолей, заполненных светлым содержимым (рис.33 и 34). Гранулярная же форма ретикулума заметных изменений не претерпела.

Вакуоли в цитоплазме альвеолярных клеток выявляются различной величины и формы. Большие вакуоли заполнены гомогенным содержимым умеренной плотности, в котором иногда видны хлопьевидные образования. Подобные вакуоли видны в различных участках клеток и иногда определяются непосредственно под плазматической мембраной клетки. В таких случаях в участке соприкосновения вакуоли с плазматической мембраной ни последняя, ни стенка вакуоли четко не различаются (рис. 33, В_I).

Рибосомы в цитоплазме клеток сохраняются и заметного уменьшения их в количестве не наблюдается, но обнаруживается группирование их в комочки, состоящие из различного количества рибосом. Это приводит к довольно выраженному просветлению цитоплазмы клеток (рис. 34, Р).

Митохондрии претерпевают заметные изменения в форме и структуре, особенно в альвеолярных клетках типа II.

Так, в одних клетках выявляются удлиненные булабовидные, или колбасовидные митохондрии, расположенные вокруг ядра. Такие митохондрии характеризуются наличием большого количества непра-

вильно ориентированных крист, заполняющих все внутреннее пространство митохондрий (рис. 33, М). У многих митохондрий наружная оболочка выглядит не четкой, смазанной. Матрикс же большинства из них почти нормальной плотности.

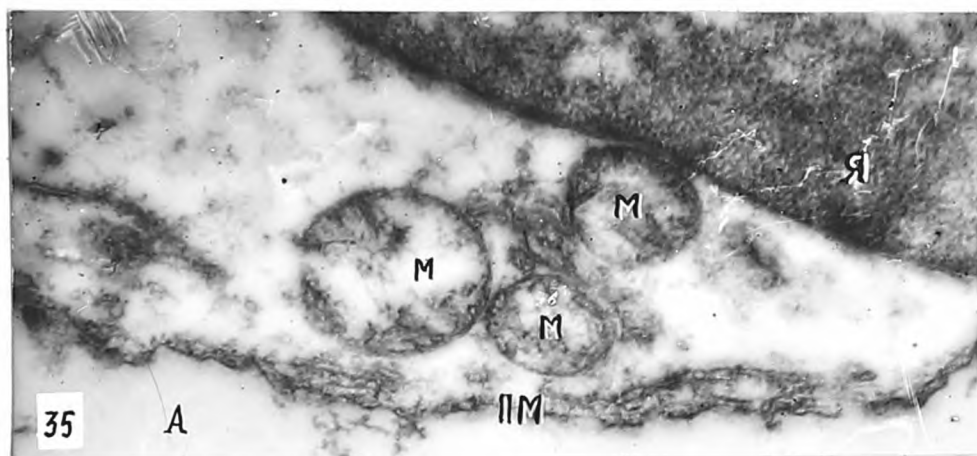
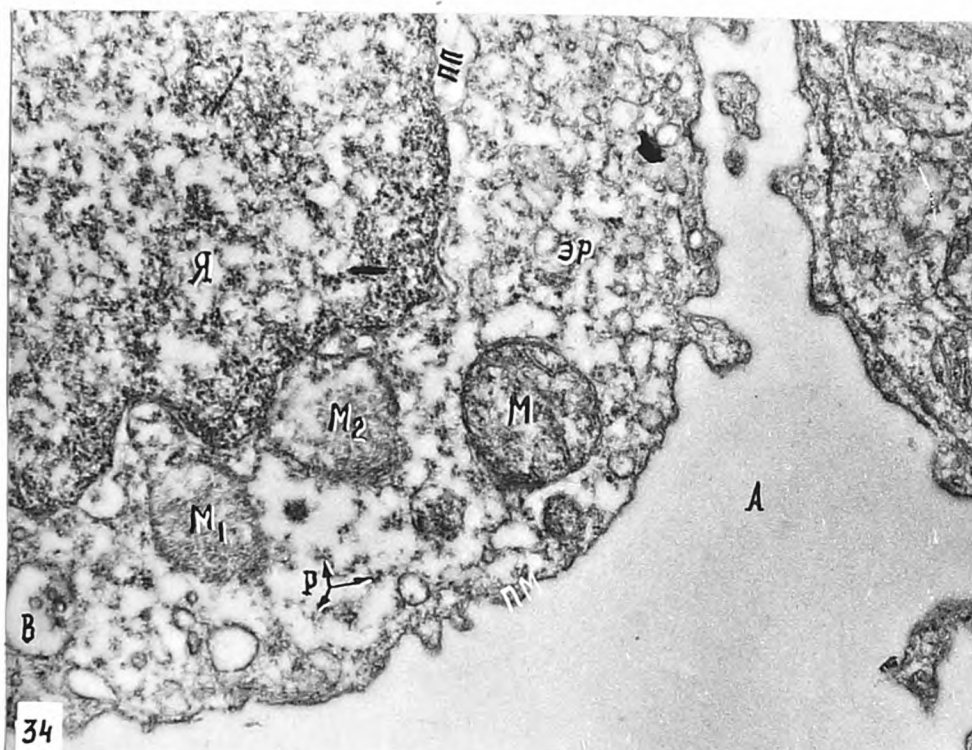
В других клетках преобладают сферические, набухшие митохондрии отличающиеся друг от друга различной степенью уменьшения плотности матрикса и содержания в нем зернышек, изменения формы, количества и ориентации крист.

На рис. 35, представляющим участок альвеолярной клетки типа I, в совершенно прозрачной цитоплазме, лишенной рибосом и элементов эндоплазматического ретикулума, видны митохондрии с полной дезорганизацией крист и светлым матриксом. Характерно, что в участке ядра, около которого расположены митохондрии, не заметно каких-либо выраженных изменений ни в хроматине, ни в оболочке ядра.

Необходимо подчеркнуть, что у подавляющего большинства набухших сферических митохондрий, независимо от степени дезорганизации их внутренней структуры, видна неповрежденная, без разрывов наружная оболочка.

Почти в каждой альвеолярной клетке, наряду с описанными двумя группами митохондрий, видны структуры, вид которых дает основание рассматривать их как лизирующиеся митохондрии (рис. 34, М₁, М₂). Однако, подобные структуры встречаются, примерно, в таком же количестве, как и в легких крысят, исследованных спустя 5-15 минут после смерти, то-есть 1-2 лизирующиеся митохондрии в ультрасрезе.

Лизосомы с неповрежденной, однослойной оболочкой выявляются крайне редко. Образования, близкие к лизосомам по размерам и внутренней структуре, но без оболочки, трудно отдифференцировать от



Посмертные изменения через 3 часа (легкое крысенка).

Рис. 34. Участок альвеолярной клетки типа II;
x 10000.

Рис. 35. Участок альвеолярной клетки типа I;
x 10000.

поперечного сечения измененных митохондрий, у которых наружная оболочка плохо определяется, или от специфических включений (пластинчатых или войлокообразных), свойственных альвеолярным клеткам типа II.

Воздушно кровеносный барьер легких через 3 часа после смерти сохраняет типичное строение, но в его ультраструктуре уже видны локальные изменения, хотя и весьма полиморфные по степени выраженности.

На большинстве электронных микрофотографий пластинчатые отростки (ПО) альвеолярных клеток типа I выглядят несколько набухшими, что придает им неровный вид (рис. 36). Плазматическая мембрана этих отростков, хотя и без видимых разрывов, но на большем протяжении нечеткая, местами размытая. В цитоплазме пластинчатых отростков выявляется большое количество вакуолей, но мелких пузырьков обнаруживается заметно меньше.

Базальные мембраны эндотелиальной и альвеолярной выстилок в области воздушно-кровеносного барьера выявляются слившимися в одну сплошную линию, имеющей обычную плотность (рис. 36). В большинстве случаев они выглядят не измененными. Однако в участках, где отмечается набухание эндотелиальных клеток и пластинчатых отростков, иногда видно расслоение базальной мембраны — с образованием лакуны (ЛА) со светлым содержимым, то есть проявление внутримембранозного отека (рис. 37). В этих случаях базальная мембрана выглядит нечеткой, пониженной плотности, иногда сливается с отеочной цитоплазмой эндотелиальных клеток и пластинчатых отростков.

Эндотелиальные клетки капилляров в одних случаях без видимых изменений, в других резко набухшие, иногда с признаками

внутрицитоплазматического отека, когда видны локальные просветления цитоплазмы с выбуханием последней в просвет капилляра (рис. 37, 38, ЭНД).

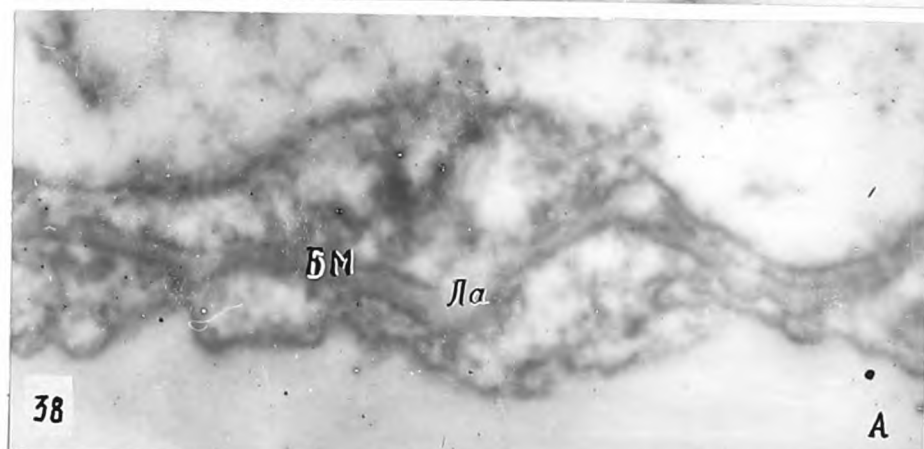
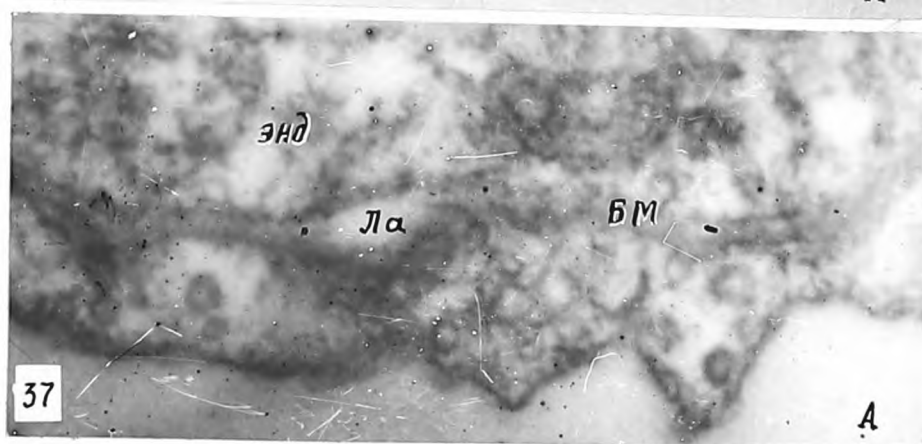
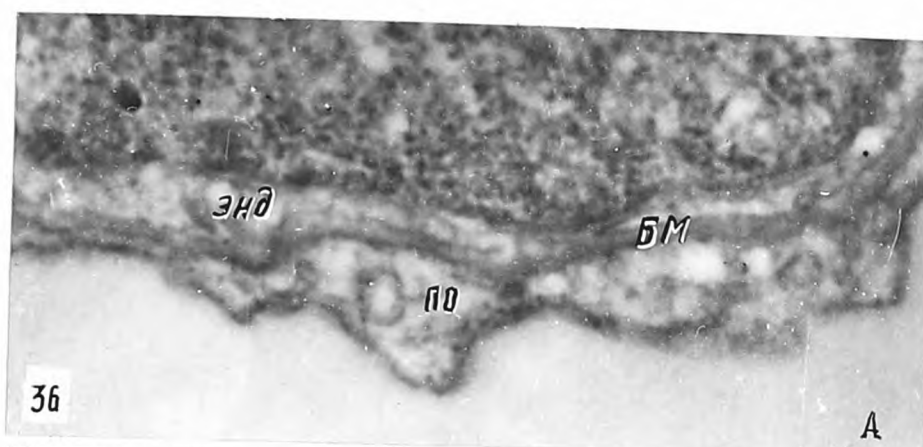
Реснитчатые клетки в бронхиолах не претерпели каких-либо заметных изменений. На рис. 39 представлены реснички в продольном и поперечном сечениях. Поверхность каждой реснички покрыта неповрежденной оболочкой. В цитоплазме ресничек видны 2 одинарные нити, расположенные в центре, и 9 двойных нитей - по периферии реснички (показано в рамке рисунка).

В септальных клетках изменения ультраструктур практически аналогичны изменениям в альвеолярных и эндотелиальных клетках. Однако в них преобладают сферические набухшие митохондрии с просветленным матриксом и различной степенью дезорганизации крист (рис. 40).

В некоторых септальных клетках, а также в фибробластах, плазматических и других клетках с развитым эндоплазматическим ретикулулом, наряду с вакуольными расширениями его канальцев появляются длинные, извитые, слегка расширенные канальцы (Ка), охватывающие митохондрии (рис. 41). Иногда в клетках видны сильно расширенные, светлые канальцы, стенки которых образуют неправильные, закругленные фигуры (рис. 42).

В легких плодов человека, спустя 3 часа после смерти, изменения ультраструктур эндотелиальных и различных соединительно-тканых клеток аналогичны изменениям в легких крыс. Как и в экспериментальном материале в них часто видны участки ткани, в которых изменения отмечаются только в ядрах клеток.

Рис. 43 дает общее представление о сохранности легочной ткани, взятой для исследования через 3 часа после смерти у 19 недельного плода, извлеченного путем кесарева сечения по пово-

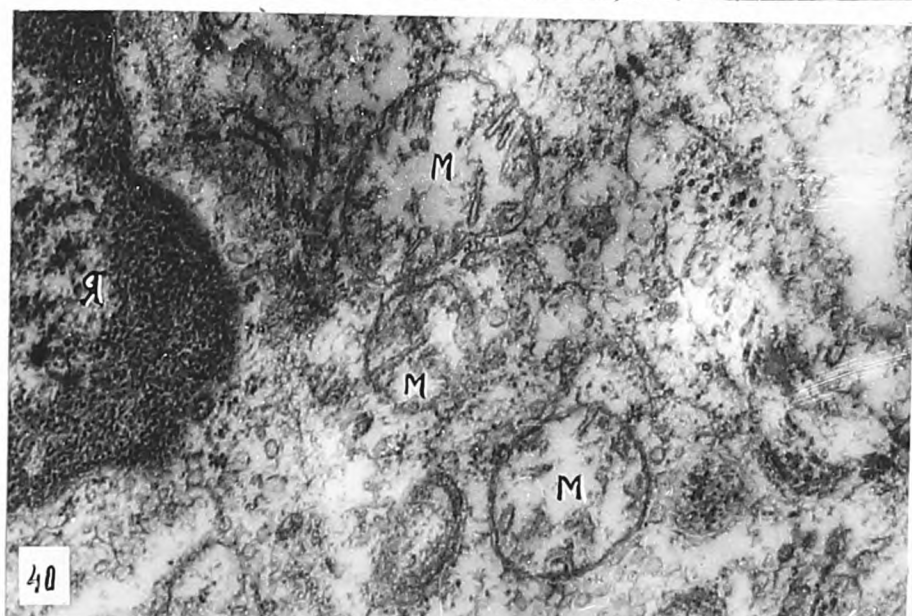


Ультраструктура воздушно-кровяного барьера в легких крыс, фиксированных через 3 часа после смерти.

Рис. 36. Базальная мембрана (БМ) видна в виде сплошной линии обычной плотности; $\times 10000$.

Рис. 37. Набухание и расслоение базальной мембраны (БМ) с образованием светлых лаку (Ла); $\times 25000$.

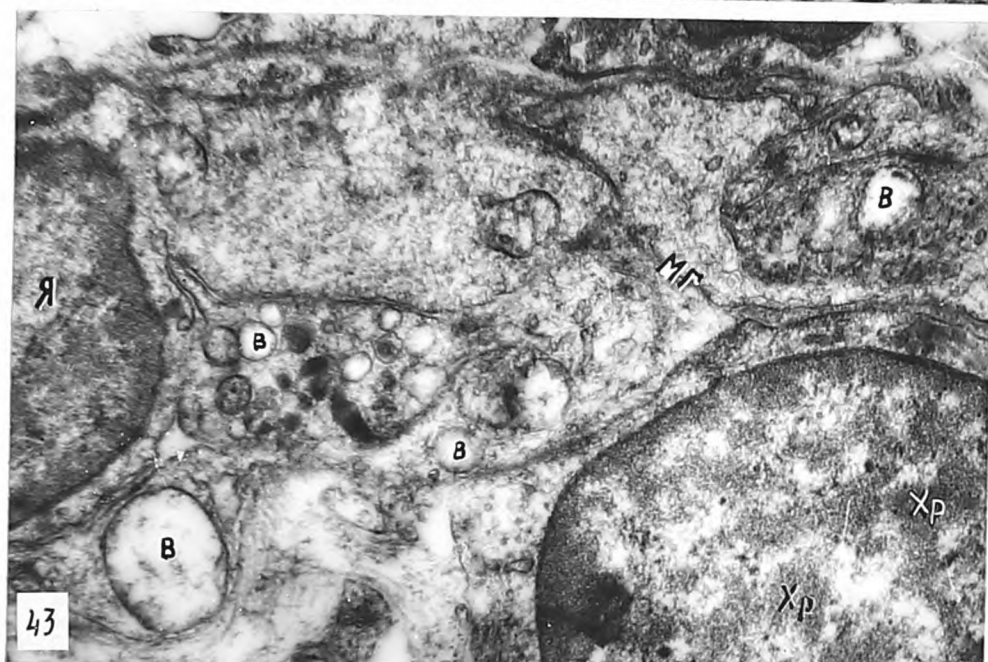
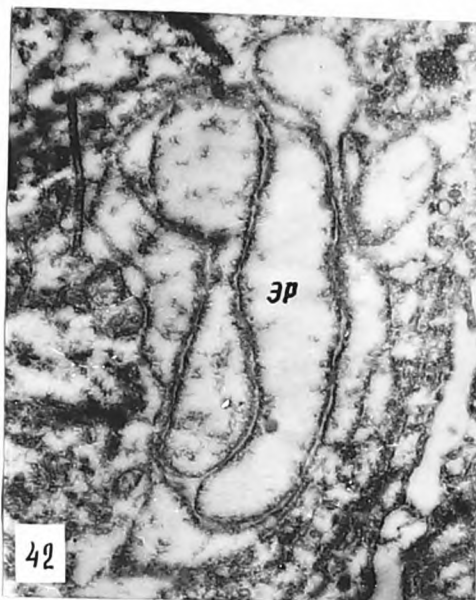
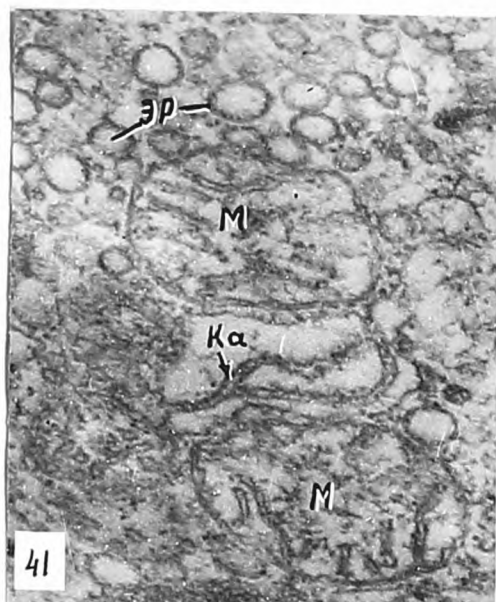
Рис. 38. Резкие отежные явления в участке воздушно-кровяного барьера; $\times 25000$.



Посмертные изменения через 3 часа (легкое крысенка)

Рис. 39. Ультраструктура ресничек у реснитчатых клеток в бронхиолах; $\times 13000$ и 25000 (в рамке).

Рис. 40. Просветление матрикса и дезорганизация крист митохондрий (М) в септальной клетке; $\times 13000$.



Посмертные изменения через 3 часа (легкое крысенка).

Рис. 41. Вакуолизация эндоплазматического ретикулума с образованием канальцев (Ка), охватывающих митохондрии (М); $\times 13000$.

Рис. 42. Расширенные канальцы эндоплазматического ретикулума (ЭР); $\times 13000$.

Рис. 43. Агрегирование зерен хроматина (Хр) в ядре и появление светлых вакуолей (В) в цитоплазме клеток легочной ткани 19 недельного плода человека; $\times 4000$.

ду шизофрении беременной женщины.

В мелкозернистом хроматине ядра видны участки просветления нуклеоплазмы, ядерная оболочка четкая. Цитоплазма нескольких соприкасающихся клеток без просветления и содержит рибосомы, а также светлые вакуоли(в) различного размера. В участке, где в срез попали межклеточные границы, последние выглядят довольно четкими (стрелки).

Таким образом, спустя 3 часа после смерти в электронном микроскопе наиболее выраженные изменения выявляются в ядрах различных клеток: потеря электронной плотности нуклеоплазмы и комкование хроматина резко возросли. В альвеолярных клетках появляются удлиненные митохондрии с пластинчато расположенными кристаллами, а в септальных клетках увеличивается число митохондрий с признаками набухания и дезорганизации внутренней структуры. В альвеолярных и других клетках отмечается вакуолизация агранулярного эндоплазматического ретикулума.

Посмертные изменения через 6 часов

Световая микроскопия к этому времени по-прежнему не выявляет каких-либо заметных сдвигов в общей структуре ткани легкого, связанных с посмертными изменениями.

В электронном же микроскопе выявляется продолжающееся нарастание изменений.

Плазматическая мембрана альвеолярных клеток местами теряет четкость, выявляясь в виде линии, состоящей из аморфной зернистости. Иногда видны истончения и разрывы (сравнительно редко) плазматической мембраны.

Характерным является резкое запустевание ядер, когда боль-

ная часть их лишена хроматина. Последний обнаруживается в незначительном количестве лишь под ядерной оболочкой. Наиболее "пустыми" выглядят ядра с признаками сморщивания. У таких ядер оболочка на большем протяжении теряет двухконтурность и с трудом определяется (рис. 44). Однако и ядра, форма которых не изменилась, также выглядят пустыми, но у таких ядер оболочка не изменена и имеет обычное строение.

Перинуклеарное пространство у одних ядер выявляется в виде узкого пространства, без расширений, у других оно не определяется.

На многих электронных микрофотографиях вокруг запустевших ядер около наружного листка оболочки видны скопления осмиофильных глыбок такой же электронной плотности, как и у зерен хроматина под оболочкой ядра. Иногда в непрерывной ядерной оболочке изредка видны разрывы, в просвете которых и снаружи от места разрыва, отмечается скопление глыбок хроматина (рис. 45, стрелки). По-видимому, через подобные разрывы и происходит вытекание нуклеоплазмы с зернами хроматина.

В окружающем ядра светлом основном веществе клеток количество рибосом заметно уменьшено. Они менее четко выявляются на расширенных канальцах гранулярных форм эндоплазматического ретикулама. Вакуолизация агранулярного профиля эндоплазматического ретикулама и особенно элементов комплекса Гольджи более выражена.

Митохондрии альвеолярных клеток резких дополнительных изменений не претерпели. Однако среди них заметно преобладание сферических митохондрий с признаками набухания: увеличение размеров, просветление матрикса, отсутствие зернышек. Лизосомы с четкой оболочкой не выявляются. Образования, сходные по размерам с лизо-

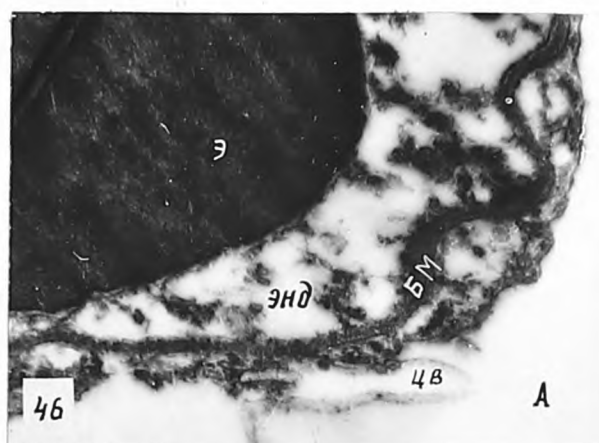
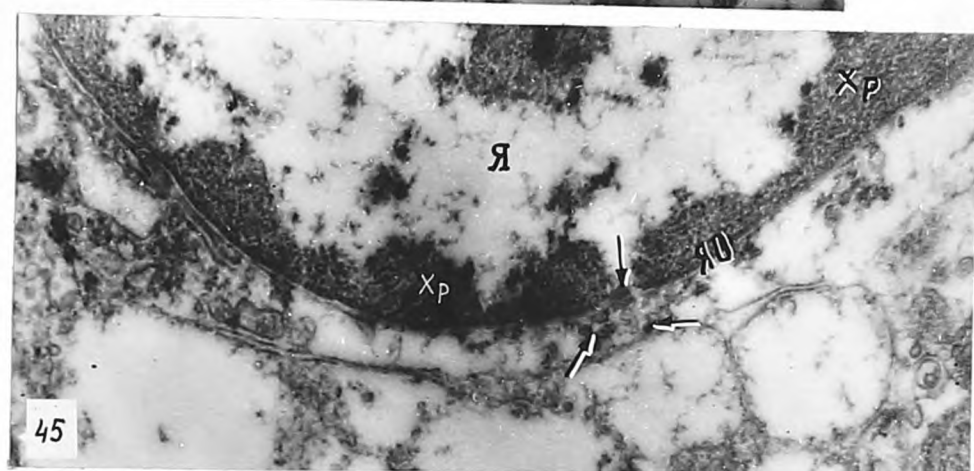
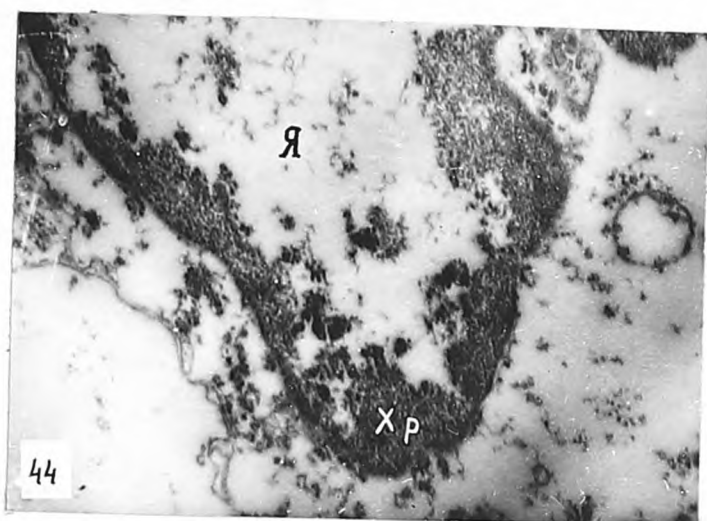
сомами, но без оболочки, выявляются в меньшем количестве, чем в предыдущих препаратах.

В воздушно-кровеносном барьере запускание цитоплазмы эндотелиальных и пластинчатых отростков альвеолярных клеток нарастает, скопления мелких пузырьков (типа пиноцитозных) под плазматическими мембранами клеток не определяются.

На рис.46 представлен участок воздушно-кровеносного барьера с признаками локального отека. К находящемуся в просвете капилляра нормального вида эритроциту плотно примыкает набухший светлый слой эндотелия (энд). Базальная мембрана (БМ) извилистая, в виде плотной линии. Слой цитоплазмы альвеолярной выстилки не утолщен, но в нем видны разрывы (стрелка) и выступающий в просвет альвеолы пальцеобразный цитоплазматический вырост (ЦВ), ограниченный утолщенной, четкой плазматической мембраной. Подобные явления внутрицитоплазматического отека отмечаются редко.

В септальных клетках, независимо от их типа, наиболее характерные изменения видны в митохондриях. Эти изменения проявляются в нарастающем набухании, в округлении тела митохондрий, в резком просветлении матрикса, в искривлении, склеивании и полной фрагментации крист, с образованием на месте митохондрий пустых вакуолей. Запустевшие митохондрии тесно соприкасаются друг с другом и, сливаясь, образуют большие пустоты и беспорядочные переплетения узких двойных канальцев.

Перечисленные изменения митохондрий весьма переменны даже в пределах одной клетки. Одни митохондрии (М) без заметного увеличения размеров, с беспорядочно расположенными двойными кристами (Кр), которые находятся в разной степени деструкции. Рядом с митохондриями иногда видны большие пустые вакуоли (В), под обо-



Посмертные изменения через 6 часов (легкое крысенка).

Рис. 44. Резкое просветление нуклеоплазмы и скопление хроматина (Хр) под ядерной оболочкой; $\times 13000$.

Рис. 45. Разрыв ядерной оболочки (обозначено стрелками); $\times 13000$.

Рис. 46. Участок воздушно-кровеносного барьера; $\times 12000$.

(описание в тексте)

лочкой которых заметны образования, напоминающие обрывки двойных крист митохондрий (рис. 47). Другие сильно набухшие, с истонченной наружной оболочкой, с тонкими фрагментами крист, разбросанными в "пустом" матриксе (рис. 48 и 49). Третьи имеют вид светлых вакуолей, под оболочкой которых имеются обрывки крист и осмиофильные комочки (рис. 50 и 51, обозначено стрелками).

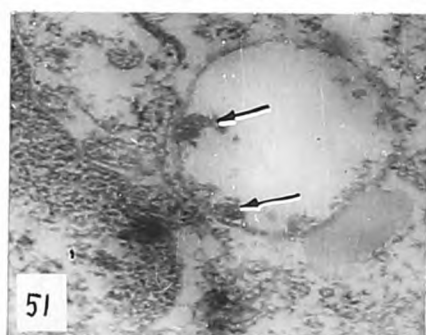
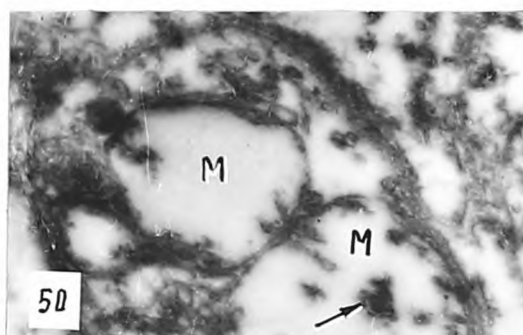
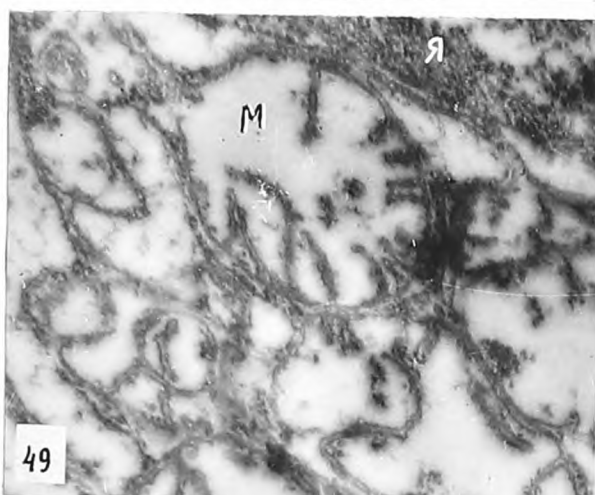
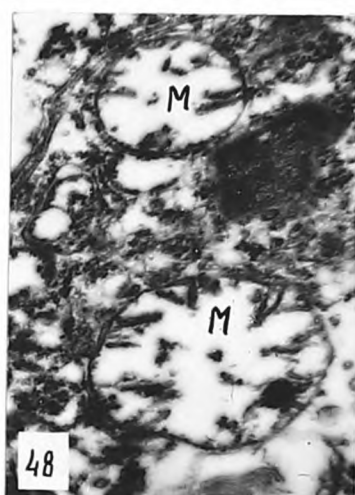
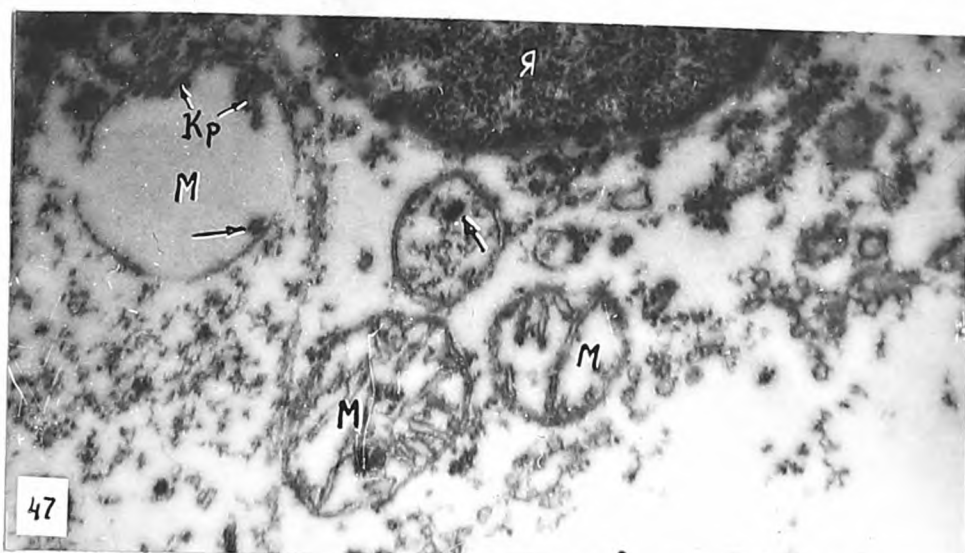
В цитоплазме септальных клеток видны также скопления овальных светлых вакуолей либо пустых, либо содержащих частицы такой же плотности, как и у частиц вне вакуолей. Вакуоли отграничены от окружающей цитоплазмы довольно четкой однослойной оболочкой. У некоторых вакуолей оболочка сливается с плотными осмиофильными частицами (Ч), скопившимися снаружи оболочки (рис. 52).

В межклеточном пространстве альвеолярной стенки на некоторых электронных микрофотографиях видны округлые образования, состоящие из тонких concentрически расположенных волокон, типа миэлиновых фигур (МФ), но с более волнистыми линиями (рис. 53). По сравнению с более ранними сроками посмертных изменений подобные структуры в данных препаратах выявляются чаще.

В фибриллярных структурах межалвеолярной перегородки заметных изменений не обнаружено.

Сопоставление 6 часовых посмертных изменений в крысиных легких с изменениями в легких плодов человека не выявило в последних каких-либо дополнительных изменений ультраструктур клеток.

Итак, электронномикроскопически спустя 6 часов после смерти как в крысиных легких, так и в легких плодов человека, отмечается нарастание просветления нуклеоплазмы, появляются отдельные разрывы ядерной оболочки. Количество рибосом уменьшается. Эндоплазматический ретикулум, комплекс Гольджи, митохондрии заметно вакуолизируются. В других ультраструктурах легочной ткани замет-



Деструктивный характер изменения митохондрий в клетках легочной ткани крысенка, фиксированной через 6 часов после смерти (описание в тексте).

Увеличения рис.: x 15000; x 20000; x 20000; x 15000; и x 13000.

ных дополнительных повреждений не выявляется.

П о с м е р т н ы е и з м е н е н и я через 12 час.

На гистологических препаратах, исследованных под световым микроскопом, впервые наблюдаются, хотя и не резко выраженные, изменения в альвеолярных и других клетках. Они проявились в разряжении хроматина, в потере четкости ядерной оболочки - в одних клетках, и в заметном пикнозе, иногда кариорексисе и кариолизе - в других. Следует подчеркнуть, что отмеченные изменения весьма полиморфны не только в различных участках легкого, но даже в соседних клетках (рис. 54). Коллагеновые и аргирофильные волокна заметных изменений не претерпели.

В электронном микроскопе спустя 12 часов после смерти по-прежнему видна мозаичность изменений ультраструктур клеток в различных клетках и в пределах одной клетки.

В альвеолярных клетках выраженного набухания и увеличения их размеров не отмечается. Плазматическая мембрана у большинства из них имеет вид аморфной, нечеткой линии, разрывы видны чаще. Межклеточные границы дополнительных изменений не претерпели. В базальной мембране альвеолярной выстилки резких изменений не определяется. В некоторых участках она либо истончена, либо несколько утолщена, пониженной плотности.

В ядрах многих клеток исчезновение хроматина и уплотнение его глыбок под оболочкой более выражено. Ядерная оболочка дополнительных изменений не претерпела.

Эндоплазматический ретикулум, его гладкая (агранулярная) форма более вакуолизирована, шероховатая (гранулярная) значительно меньше.

Комплекс Гольджи на фоне вакуолизированного эндоплазматиче-

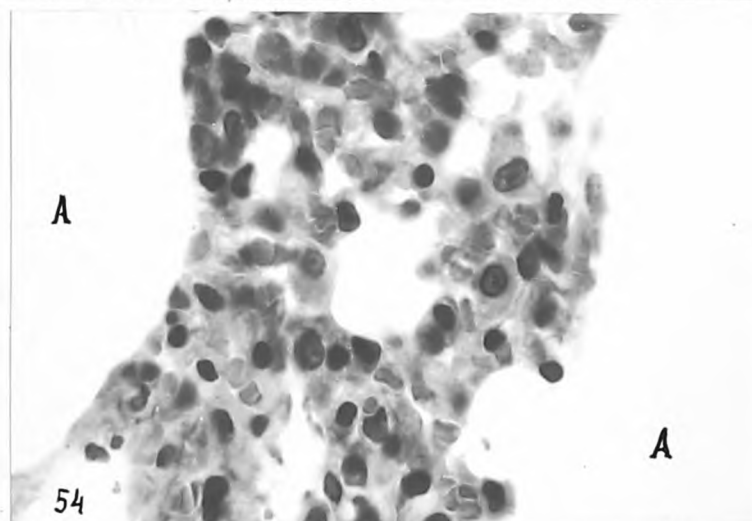
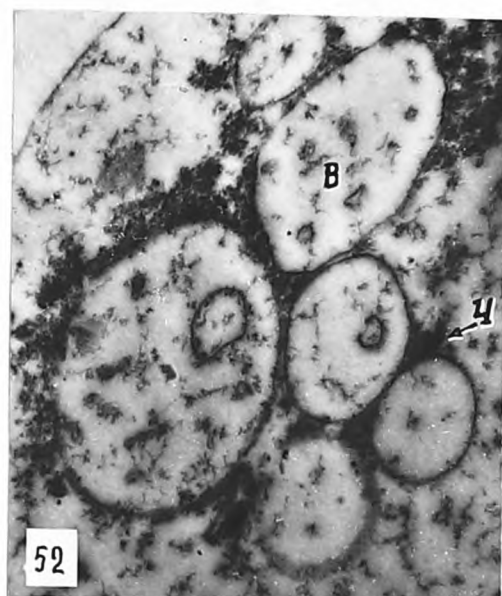


Рис. 52. Вакуоли различного размера в цитоплазме септальных клеток; $\times 15000$.

Рис. 53. Ультраструктура тельца типа миелиноподобной фигуры; $\times 13000$.

Рис. 54. Гистологическая картина участка легкого крысенка, фиксированного через 12 часов после смерти. Окраска гематоксилин-эозином; $\times 1350$ (описание в тексте).

ского ретикулума определяется с трудом.

Рибосомы в просветленной цитоплазме клеток чаще не видны, иногда они выявляются в виде редких скоплений.

В митохондриях дополнительного разбухания не отмечено, но в большинстве клеток, независимо от степени дезорганизации других органоидов, отчетливо выявляется тенденция митохондрий к группированию.

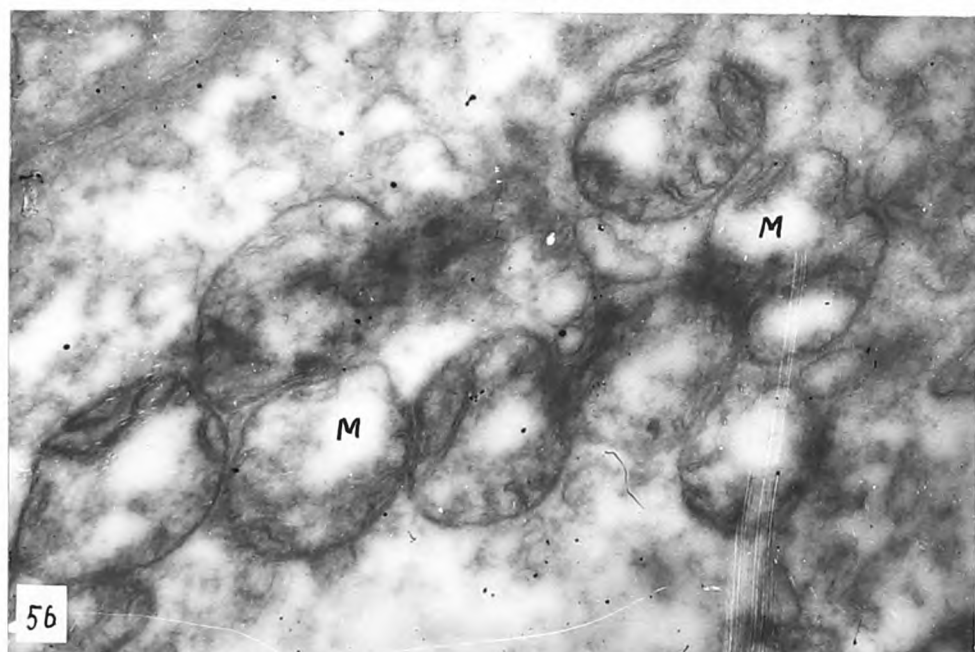
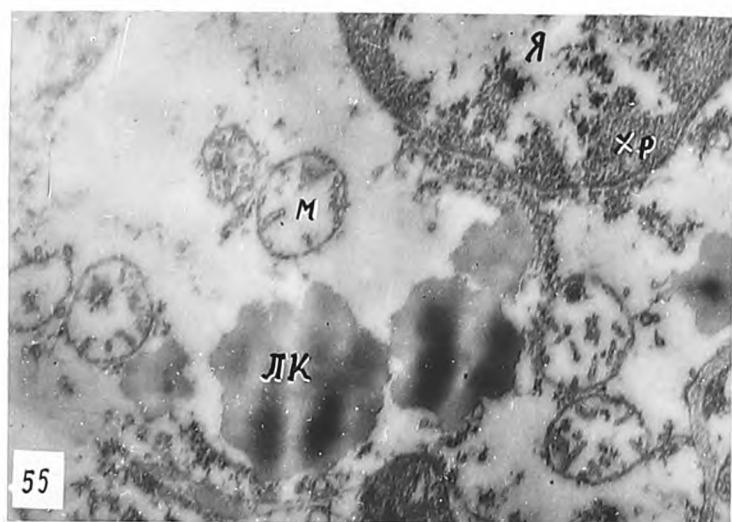
Вблизи ядра (Я) группирование митохондрий менее выражено, и они часто разделены липидными каплями (ЛК), имеющими обычную плотность и форму (рис.55). Однако в периферических частях клеток, особенно в апикальных их отделах, обращенных в просвет альвеол, митохондрии тесно соприкасаются друг с другом, но без слияния их наружных мембран.

Аналогичные скопления митохондрий выявляются в клетках легких плодов человека. В местах соприкосновения сильно измененных митохондрий заметно скопление мелких осмиофильных частиц (Ч). В этих участках наружная мембрана митохондрий не видна, тогда как на всем остальном протяжении она просматривается, и часто двойная. В просветленном матриксе видны фрагменты крист (Кр), которые сохранили двухконтурность (рис.56).

Через 12 часов после смерти лизосомы ни с оболочкой, ни без нее с достоверностью не обнаружены.

В воздушно-кровеносном барьере легких изменения по-прежнему переменны - от незначительного просветления и набухания цитоплазмы эндотелиальной и альвеолярной выстилок, до полного распада последних и разделяющей их базальной мембраны.

На рис. 57 представлен участок воздушно-кровеносного барьера легких крысенка первых суток жизни. В просвете капилляра



Посмертные изменения через 12 часов.

Рис. 55. Участок септальной клетки (легкое крысенка); $\times 13000$.

ЛК- липидные капельки; М- митохондрии; Я - ядро.

Рис. 56. Группирование деструктивно измененных митохондрий в периферических зонах клеток (легкое плода человека); $\times 18000$.

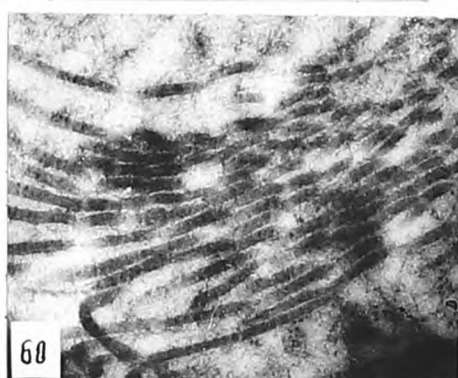
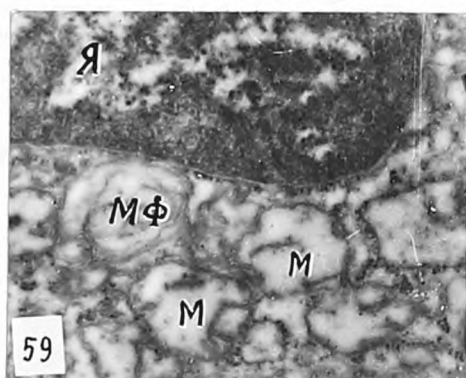
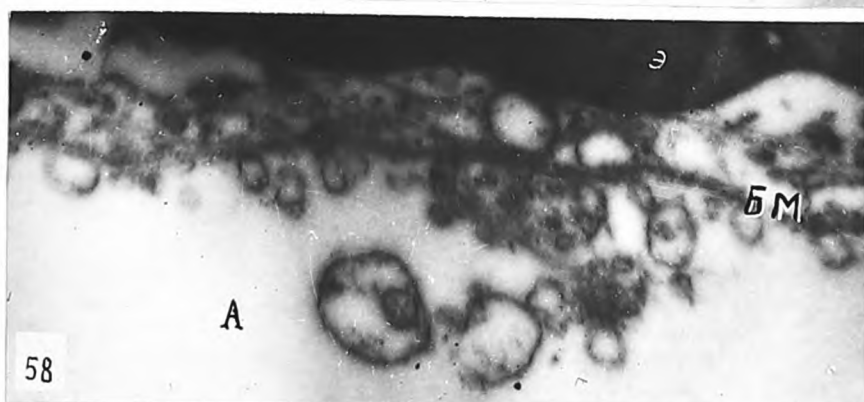
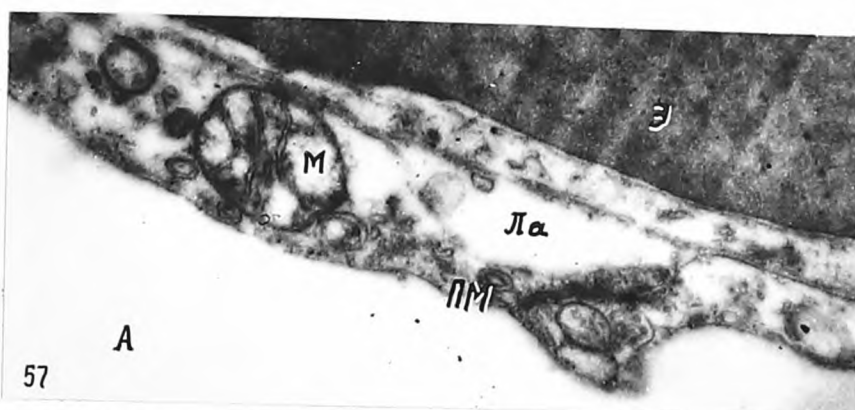
видна часть эритроцита обычной плотности под которым просматривается тонкий слой эндотелия (Энд). Базальная мембрана (БМ) нечеткая, местами прерывистая. В центре рисунка видно расслоение базальной мембраны на два листка, с образованием лакуны с прозрачным содержимым (Ла). В незначительно набухшей цитоплазме пластинчатого отростка видна митохондрия (М) типичной формы и структуры, с нерезким просветлением матрикса. Плазматическая мембрана (ПМ) со стороны просвета альвеолы (А) довольно четкая, без разрывов.

На рис.58 в аналогичном участке воздушно-кровеносного барьера тех же легких видна полная деструкция барьера, с образованием большого количества вакуолей (В) и мелких пузырьков. Однако, следует отметить, что подобные картины в данных препаратах встречаются редко.

В септальных клетках изменения ультраструктур аналогичны таковым в альвеолярных и эндотелиальных клетках. В цитоплазме этих клеток (независимо от их типа) наряду с вакуолисто-измененными митохондриями в заметном количестве видны ранее описанные миэлиноподобные фигуры. Они чаще находятся среди скоплений вакуолей, запустевших и слившихся митохондрий (рис. 59). Видны они также и в межклеточном пространстве альвеолярной перегородки.

В строке альвеолярной перегородки среди волокнистых структур выраженных изменений не отмечено, но у коллагеновых волокон поперечная исчерченность часто не определяется, тогда как у ретикулиновых волокон эта исчерченность видна (рис. 60). Эластические волокна сохраняют свойственную им гомогенность и плотность, близкую к плотности базальных мембран.

Таким образом, спустя 12 часов после смерти, под световым



Посмертные изменения через 12 часов
(легкое крысенка).

Рис. 57. Расслоение базальной мембраны (БМ) в участке воздушно-кровеносного барьера; х 15000.

Рис. 58. Полная деструкция участка воздушно-кровеносного барьера х 15000.

Э- эритроцит в просвете капилляра; БМ-базальная мембрана; В-вакуоли; А-просвет альвеолы.

Рис. 59. Скопление запустевших митохондрий (М), вакуолей (В), миелиноподобных фигур (МФ) около ядра септальной клетки; х 10000.

Рис. 60. Ретикулиновые волокна; х 15000.

Поперечная исчерченность волокон еще определяется.

микроскопом обнаруживаются изменения в структуре некоторых клеток в виде начавшегося кариолиза, кариопикноза и кариорексиса.

В электронном микроскопе в этом периоде отчетливо выявляется нечеткость и смазанность плазматических мембран клеток, нарастающее запустевание ядер, вакуолизация эндоплазматического ретикула, резкое уменьшение количества рибосом и отсутствие лизосом. В клетках отмечается заметное группирование измененных митохондрий и появление миэлиноподобных фигур, которые в большом количестве видны в межклеточных пространствах альвеолярной перегородки.

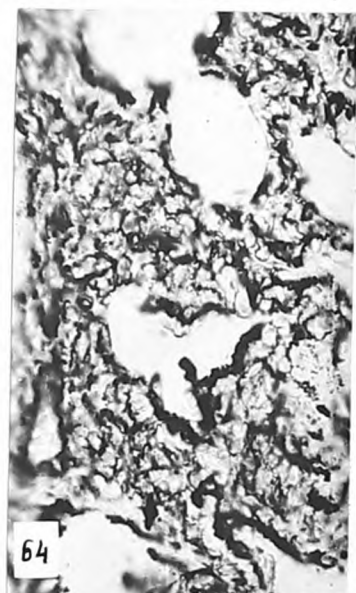
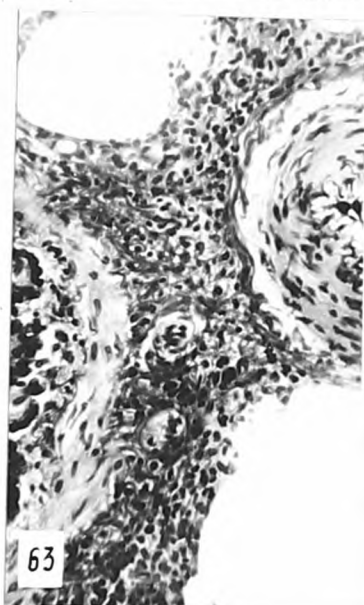
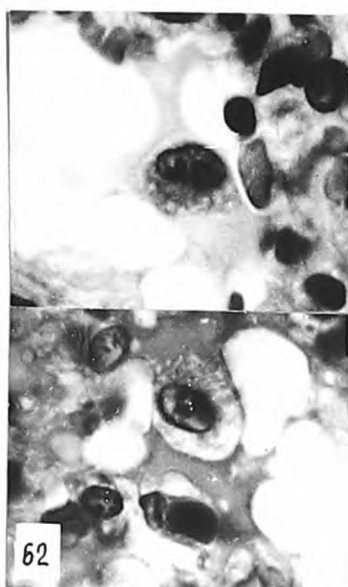
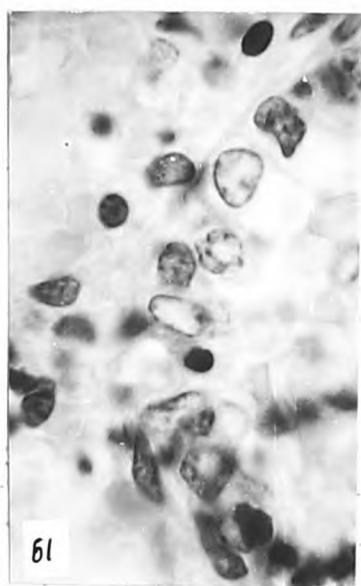
Посмертные изменения через 24 часа

Под световым микроскопом обнаруживается количественное нарастание клеток с ядрами, находящимися в стадии кариолиза (рис. 61). Нарастает также количество альвеолярных и септальных клеток, цитоплазма которых имеет ячеистый вид (рис. 62). В толще межальвеолярных перегородок вокруг ядер видны участки либо с повышенной базофилией, либо светло-тусклые, с наличием мелкой зернистости. Коллагеновые волокна в периваскулярных и перибронхиальных участках выглядят слегка набухшими (рис. 63).

В стенках бронхов и сосудов, а также в различных участках межальвеолярных перегородок заметно утолщение и побледнение аргирофильных волокон, а местами фрагментация отдельных волокон (рис. 64).

В электронном микроскопе выявлены следующие изменения.

Альвеолярные клетки, независимо от их типа, резких изменений в форме и величине не претерпели. Однако плазматическая мембрана почти у всех клеток превратилась в бесформенную, иногда прерывистую линию, представляющую собой скопление мелких частичек



Посмертные изменения через 24 часа (легкое крысенка).

Рис. 61. Количественное нарастание клеток с ядрами, находящимися в стадии кариолиза. Окраска гематоксилин-эозином; $\times 1350$.

Рис. 62. Альвеолярные и септальные клетки с ячеистой и зернистой цитоплазмой. Окраска гематоксилин-эозином, $\times 1350$.

Рис. 63. Незначительное набухание коллагеновых волокон в периваскулярных и перибронхиальных пространствах. Окраска по Ван-Гизон; $\times 140$.

Рис. 64. Утолщение, побледнение, местами фрагментация аргирофильных волокон. Импрегнация серебром по Футу; $\times 280$.

различной плотности, диффузно распределенных по границам клеток (рис. 65).

Изменения в ядрах полиморфны. В одних случаях они выглядят совершенно пустыми, с остатками гранул хроматина плотно упакованных под оболочкой ядра, которая, однако, сохраняет свои характерные черты. В других случаях просветление нуклеоплазмы и конгломерирование хроматина менее выражено, но ядерная оболочка выглядит не четкой, без определяемого перенуклеарного пространства, иногда с разрывами. Однако, в целом, для данного срока посмертных изменений характерно запустевание ядер и скопление хроматина по периферии ядра в виде плотных комков и пакетов.

В совершенно светлой цитоплазме клеток, как одиночные рибосомы, так и их скопления обнаруживаются крайне редко.

Агранулярный (гладкий) и гранулярный (шероховатый) эндоплазматический ретикулум в клетках не дифференцируется.

Не определяется также комплекс Гольджи.

Деструктивно измененные митохондрии в большинстве случаев видны на периферии клеток или непосредственно под плазматической мембраной, обращенной в просвет альвеол. На рис. 65 представлена часть альвеолярной клетки, обращенной в просвет альвеолы (А). Под разрушающейся плазматической мембраной (ПМ), видны плотно упакованные между собой митохондрии. В деформированных митохондриях заметны различной плотности фрагменты крист (Кр). Некоторые митохондрии заполнены аморфным веществом и очень плотными осмиофильными включениями (Вк). Окружающая митохондрии цитоплазма пуста и только около митохондрии видно скопление аморфного вещества повышенной плотности и мелких пузырьков (ПУ), с довольно

плотным гомогенным содержимым.

В других клетках видны скопления пустых, вакуолеподобных митохондрий, а также скопления светлых вакуолей (В), среди которых выявляются запустевшие митохондрии с двойной оболочкой и фрагментами крист (Кр) повышенной осмиофильности (рис. 66). На данной электронной микрофотографии можно видеть сливающиеся между собой две митохондрии, из которых одна уже слилась и с плазматической мембраной (ПМ).

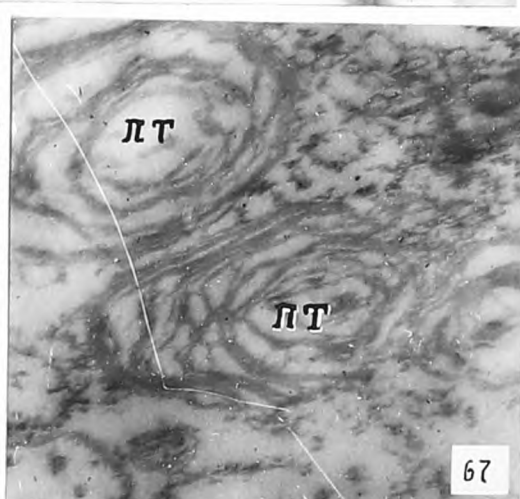
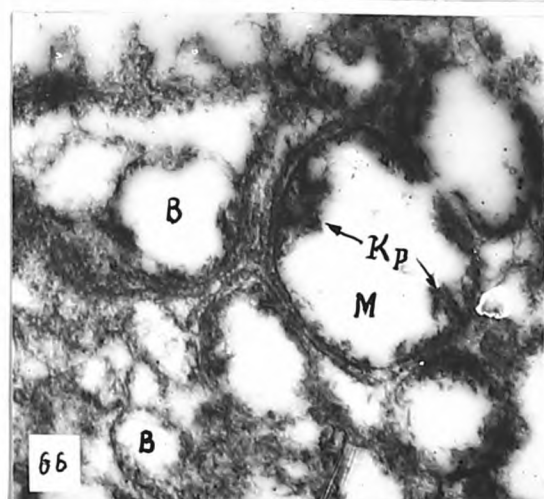
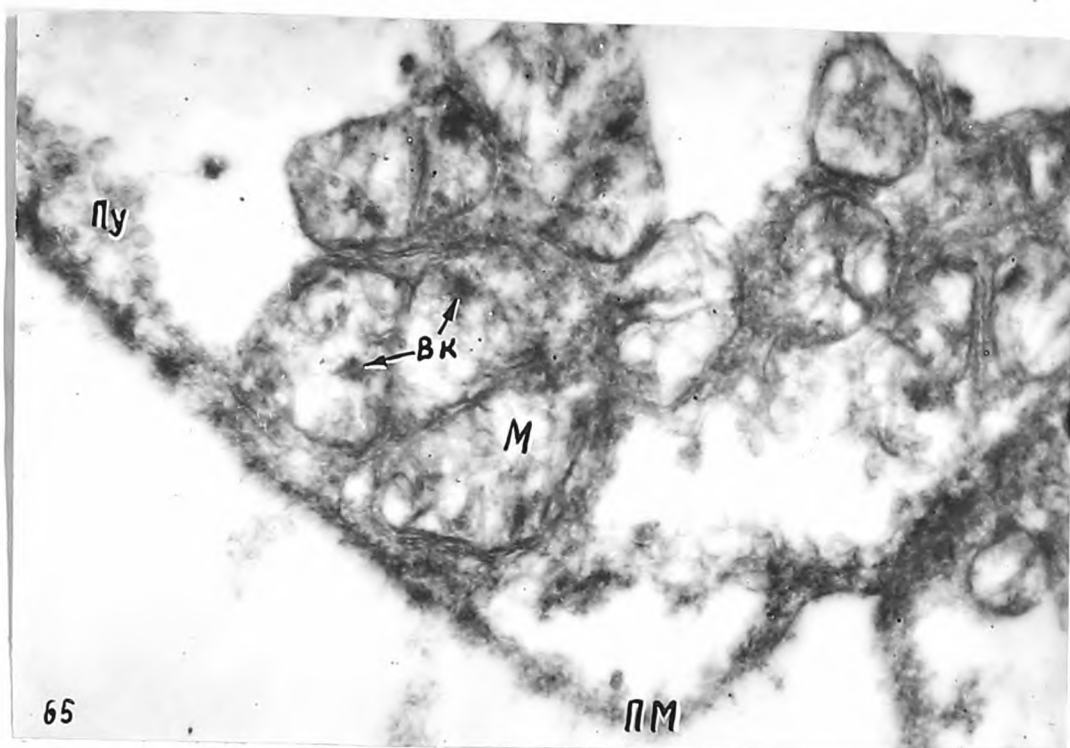
Для войлокообразных и пластинчатых телец в альвеолярных клетках типа II характерно разволокнение и увеличение промежутков между спирально закрученными пластинками, которые имеют искривленную форму и часто анастомозируют между собой. В некоторых клетках отмечается группирование подобных включений (рис. 67).

Образования типа лизосом в альвеолярных клетках нами не обнаружены. Не обнаружены они при данном сроке посмертных изменений и в других различных клетках легочной ткани. Изредка встречаемые липидные капли заметных изменений не претерпели.

В воздушно-кровеносном барьере легких наиболее выраженные дополнительные изменения видны в базальных мембранах альвеолярных и эндотелиальных выстилок. Они проявляются в понижении плотности мембран, в их истончении, вплоть до разрывов и фрагментации, особенно в участках разрушения эндотелиальных клеток и пластинчатых отростков альвеолярных клеток типа I.

Изменения ультраструктур эндотелиальных клеток аналогичны описанным в альвеолярных клетках. Плазматическая мембрана этих клеток более повреждена, с частыми разрывами и неровными выпячиваниями.

Находящиеся в просветах капилляров эритроциты обычной плот-



Посмертные изменения через 24 часа (легкое крысенка)

Рис. 65. Скопление деструктивно измененных митохондрий под разрушающейся плазматической мембраной альвеолярной клетки; х 18000.

Кр- кристы митохондрий; Вк- осмиофильные включения; Пу-пузырьки; ПМ- плазматическая мембрана.

Рис. 66. Слияние между собой запустевших митохондрий и вакуолей, расположенных под плазматической мембраной клетки; х 18000.

Рис. 67. Разволокнение включений типа пластинчатых телец в альвеолярных клетках типа II; х 24000.

ности, форма же их повторяет очертания прилежащих к ним участков цитоплазмы эндотелиальных клеток.

В септальных клетках изменения митохондрий и других органов и включений фактически идентичны изменениям в альвеолярных и эндотелиальных клетках. Однако процесс вакуолизации и слияния митохондрий в этих клетках более выражен. В них чаще видны описанные в препаратах через 6 и 12 часов после смерти миэлиноподобные фигуры. Аналогичные фигуры в заметном количестве видны также в межклеточном пространстве альвеолярной перегородки.

Волокнистые структуры межальвеолярной перегородки умеренно набухшие, но нечеткие: поперечная исчерченность ретикулиновых и коллагеновых волокон не выявляется. Межволокнутое цементирующее вещество совершенно светлое.

Вышеописанные изменения в альвеолярных и других клетках крысиного легкого подобны изменениям ультраструктур клеток в ткани легкого плодов человека.

Таким образом, спустя 24 часа после смерти световая и электронная микроскопия выявляют деструктивный характер повреждения легочной ткани.

Электронномикроскопически обнаруживается нарастание ультраструктурной дезорганизации клеток. В сильно вакуолизированном эндоплазматическом ретикулуме клеток его гладкие и гранулярные формы не дифференцируются. Запустевание митохондрий и превращение их в вакуолеподобные фигуры более выражены. В области воздушно-кровеносного барьера легких деструктивные процессы также более выражены. В альвеолярной перегородке количество миэлиноподобных фигур увеличивается, ретикулиновые и коллагеновые во -

окна теряют поперечную исчерченность.

Посмертные изменения через 48 часов.

Световая микроскопия выявляет нерезкие деструктивные изменения в ткани легкого.

Электронномикроскопически через 48 часов после смерти выявляются резкие нарушения субмикроскопической организации легочной ткани.

Так, плазматическая мембрана клеток альвеолярной и эндотелиальной выстилок, а также септальных клеток в большинстве случаев разрушена, межклеточные границы не определяются. Базальная мембрана определяется не на всем протяжении, иногда она почти сливается прилегающими к ней осмиофильными частицами распадающихся плазматических мембран клеток, а также с обрывками мембранных внутриклеточных структур.

Ядра различных клеток, по сравнению с 24 часами посмертных изменений, выраженных дополнительных нарушений не претерпели. У многих из них видна двойная оболочка. Однако, в большинстве случаев между ядерной оболочкой (ЯО) и уплотнившимся хроматином (Хр) определяется различной ширины щелевидное пространство, появившееся, очевидно, вследствие отслаивания оболочки (рис. 68). У других ядер, с более выраженными признаками сморщивания, ядерная оболочка не видна, а когломераты хроматина по периферии ядра выглядят распадающимися и сливающимися с фрагментами разрушенных внутриклеточных структур (рис. 69).

В совершенно светлой цитоплазме альвеолярных и эндотелиальных клеток ни рибосомы, ни лизосомы, а также комплекс Гольджи и эндоплазматический ретикулум не выявляются. В клетках на фоне беспорядочного скопления осмиофильного материала видны пустые вакуо-

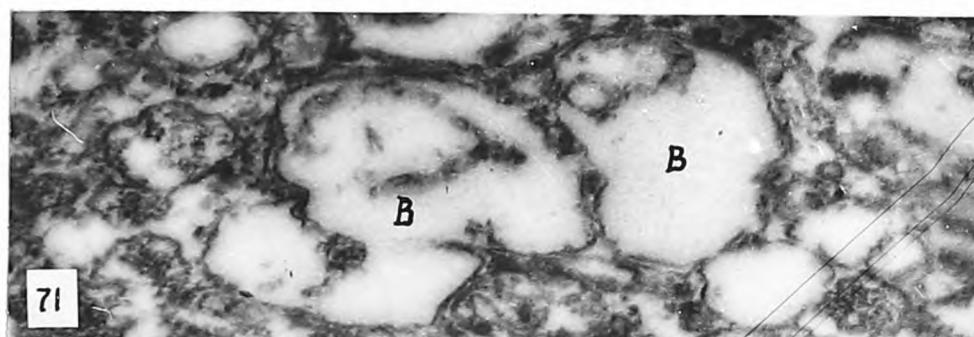
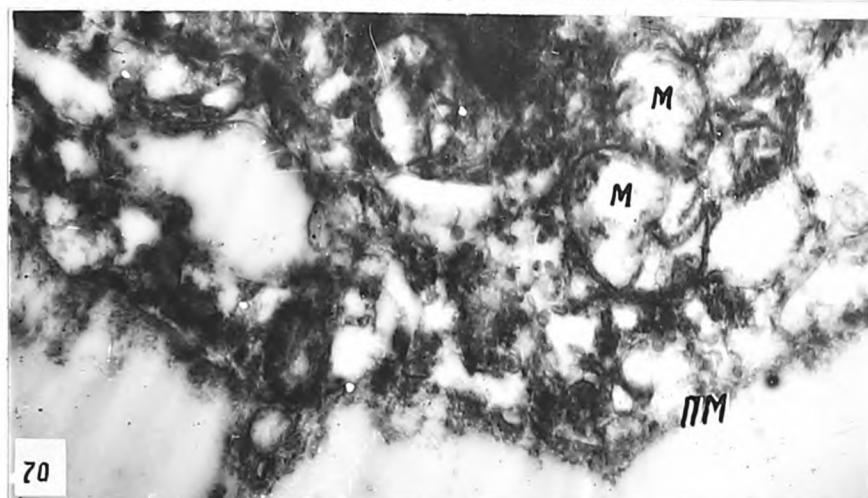
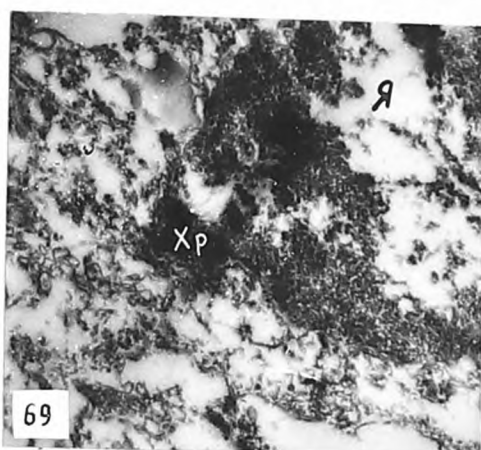
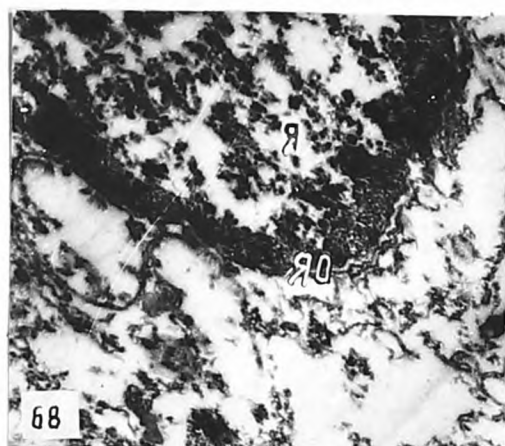
ли (В), многие из которых по размерам близки к набухшим запустевшим митохондриям (рис. 70).

В воздушно-кровеностном барьере легких плазматическая мембрана эндотелиальных клеток и пластинчатых отростков на большом протяжении разрушена и вакуоли, а также осмиофильные обрывки разрушенных вакуолей, митохондрий и других цитоплазматических структур, оказываются лежащими в просвете альвеол и капилляров. Базальная мембрана видна в виде бесформенной, часто изломанной и прерывистой линии, состоящей из аморфного вещества слабой электронной плотности. В случаях, когда базальная мембрана полностью разрушена, находящиеся в просвете капилляров эритроциты отделены от просвета альвеолы лишь скоплением различного размера вакуолей и аморфного осмиофильного вещества.

В межальвеолярной перегородке на светлом фоне запустевшего основного вещества межклеточных пространств видны скопления бесформенных светлых вакуолей, многие из которых напоминают слившиеся между собой пустые митохондрии (рис. 71). Часто в таких участках выявляются различного размера миэлиноподобные фигуры, количество которых при данном сроке посмертных изменений заметно нарастает.

Встречающиеся в альвеолярной перегородке немногочисленные волокнистые структуры имеют нечеткий, набухший вид. Поперечная исчерченность волокон не определяется.

Итак, субмикроскопические изменения в данном периоде носят явно деструктивный характер. Плазматические мембраны клеток альвеолярной и эндотелиальной выстилок, а также базальные мембраны этих выстилок с множественными разрывами. Появляется отслаивание ядерных оболочек и их фрагментация. Эндоплазматический ретикулум



Посмертные изменения через 48 часов (легкое крысенка)
Рис. 68. Начинающееся отслаивание ядерной оболочки (ЯО)
x 4000.

Рис. 69. Отсутствие ядерной оболочки у распадающегося
ядра; x 4000.

Рис. 70. Полная ультраструктурная дезорганизация альве-
олярной клетки; x 10000.

Рис. 71. Скопление в межклеточном пространстве бесфор-
менных вакуолей; x 24000.

в клетках не выявляется, а на месте скоплений митохондрий видны пустые светлые вакуоли с редкими обрывками крист.

Посмертные изменения через 72 часа

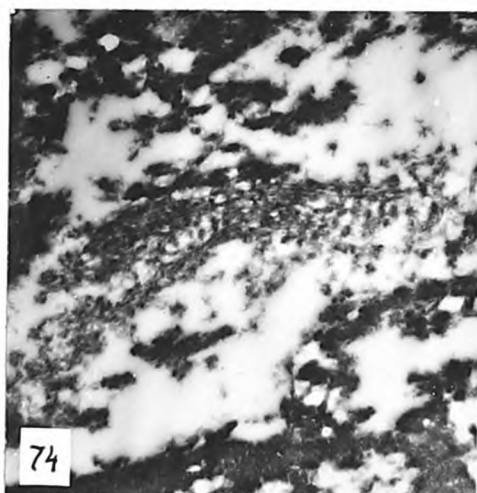
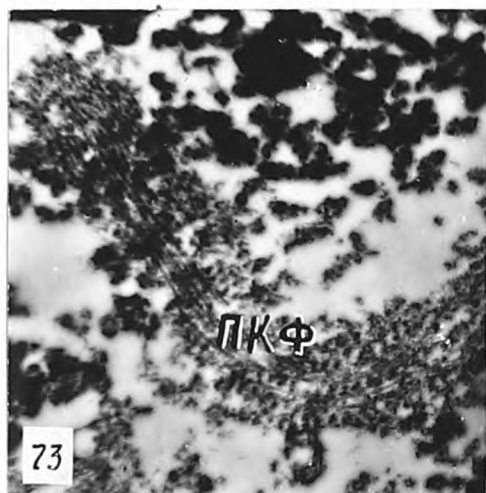
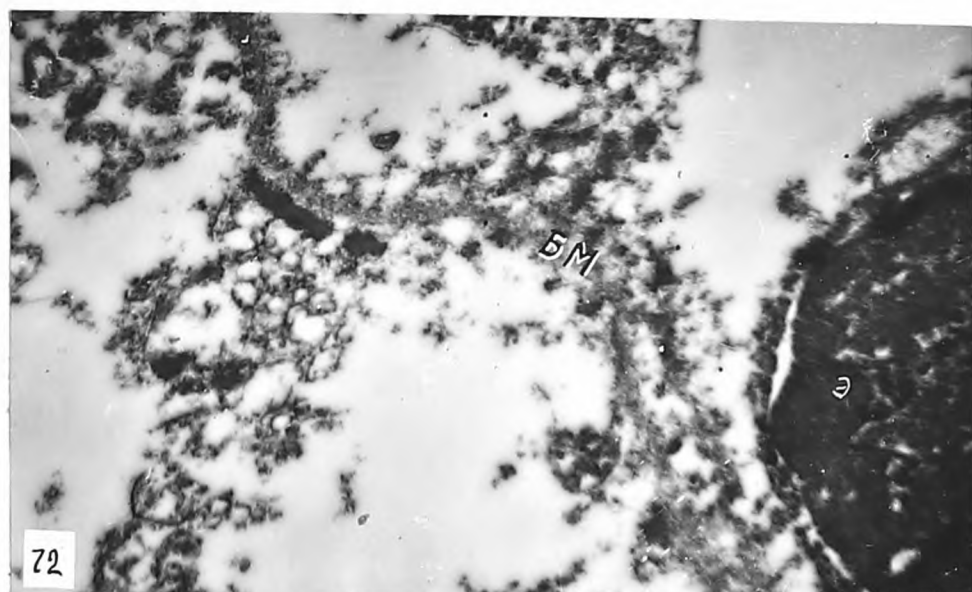
Под световым микроскопом, несмотря на деструктивный характер изменения отдельных структур, общая организация легочной ткани сохраняется.

Электронномикроскопически через 72 часа после смерти типичная ультраструктура легких у крысят практически не определяется.

Плазматические мембраны клеток в большинстве случаев полностью разрушены, и остатки разрушенных органоидов клеток сливаются, образуя бесформенные скопления частиц различной плотности. Ядра клеток еще видны, но большинство из них лишено оболочек, а уплотнившийся по периферии ядер хроматин распадается на большие плотные комки.

Базальные мембраны (БМ) на некоторых электронных микрофотографиях видны в виде линии, состоящей из мелкоточечного аморфного вещества той же плотности, что и у фрагментов распавшихся цитоплазматических структур (рис. 72). Чаще же видны фрагменты распавшихся базальных мембран.

Пучки коллагеновых и ретикулиновых волокон в продольном сечении выглядят в виде как бы аморфного тяжа, состоящего из скоплений мелких гранул слабой электронной плотности. По ходу подобных тяжей видна слабая продольная исчерченность обусловленная, по-видимому, наличием распадающихся первичных коллагеновых фибрилл (рис. 73). В поперечном сечении волокна с трудом выявляются среди хаотического скопления бесформенных частиц (рис. 74).



Посмертные изменения через 72 часа (легкое крысенка).

Рис. 72. Полная ультраструктурная дезорганизация легочной ткани; $\times 5000$.

Рис. 73. Распад первичных коллагеновых фибрилл (ПКФ); $\times 5000$.

Рис. 74. То же самое, но в поперечном сечении; $\times 5000$.

При условии хранения обезглавленных крысят в холодильнике в течение 72 часов посмертные изменения в ультраструктуре легких были следующие.

Заметного набухания и увеличения размеров клеток альвеолярной и эндотелиальной выстилок не выявляется.

У клеток, обращенных в просвет альвеол или капилляров, плазматическая мембрана выявляется не всегда четкой, но без разрывов. Она сохраняется также в межклеточных границах, которые довольно четко видны.

Ядра (Я) альвеолярных клеток без выраженных признаков сморщивания, нуклеоплазма резко просветлена, а крупные глыбки хроматина (Хр) собраны в плотные комки, сгруппированные большей частью по периферии ядра (рис.75).

Ядерная оболочка (ЯО) у большинства ядер видна, но она имеет вид утолщенной неровной линии; видны довольно частые локальные расширения перинуклеарного пространства (ПП), имеющие такую же электронную плотность, как у нуклеоплазмы и основного вещества цитоплазмы клетки (рис.75,76).

В окружающей ядро светлой цитоплазме альвеолярных и эндотелиальных клеток видны в значительной степени расширенные профили эндоплазматического ретикулума, без четкой локализации рибосом на гранулярных формах ретикулума.

Отдельные рибосомы в цитоплазме клеток встречаются редко, они сгруппированы в короткие цепочки или в комочки.

Митохондрии выявляются в весьма различной степени набухания. Около ядер чаще видны сильно набухшие митохондрии с неопределенной, но истонченной наружной двойной оболочкой. Кристы (Кр) также истончены. В каждой митохондрии видны распавшиеся кристы с об-

разованием осмиофильных комочков. Матрикс митохондрий, независимо от степени сохранности их структуры, как правило, абсолютно просветлен, имея плотность окружающего основного вещества цитоплазмы клеток (рис. 75, 76).

Рядом с митохондриями довольно часто видны образования, напоминающие митохондрии с многочисленными пластинчатыми кристами. На рис. 76 и 78, представляющих фрагменты альвеолярной и септальной клеток, рядом с митохондриями (М) и ядром (Я) расположены овальные пластинчатые тела, которые мы рассматриваем как поперечное сечение набухших митохондрий, заполненных поперечными пластинчатыми кристами.

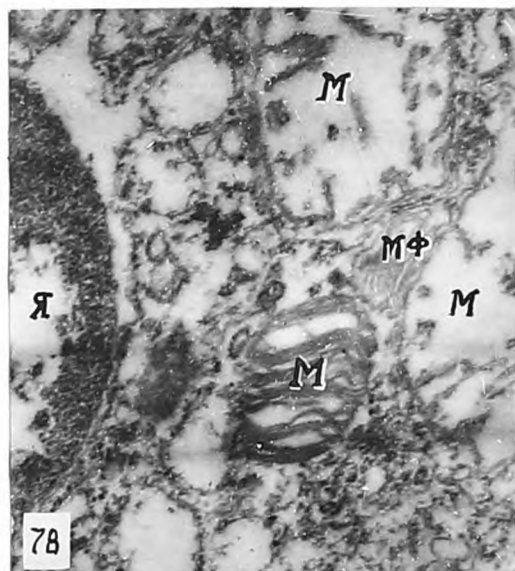
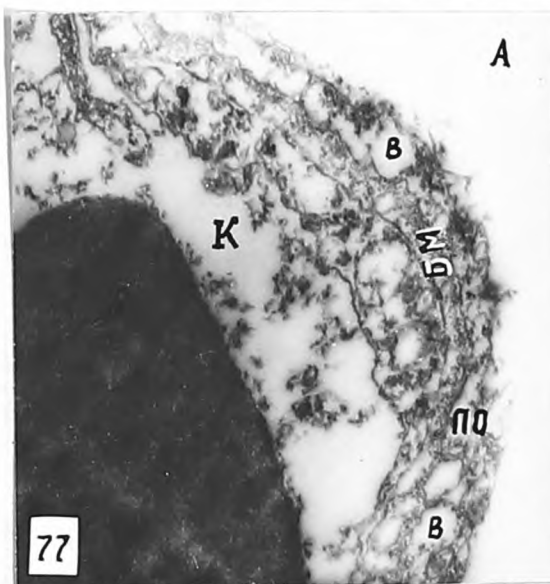
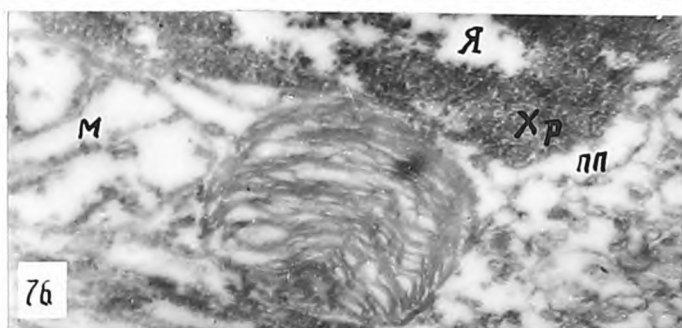
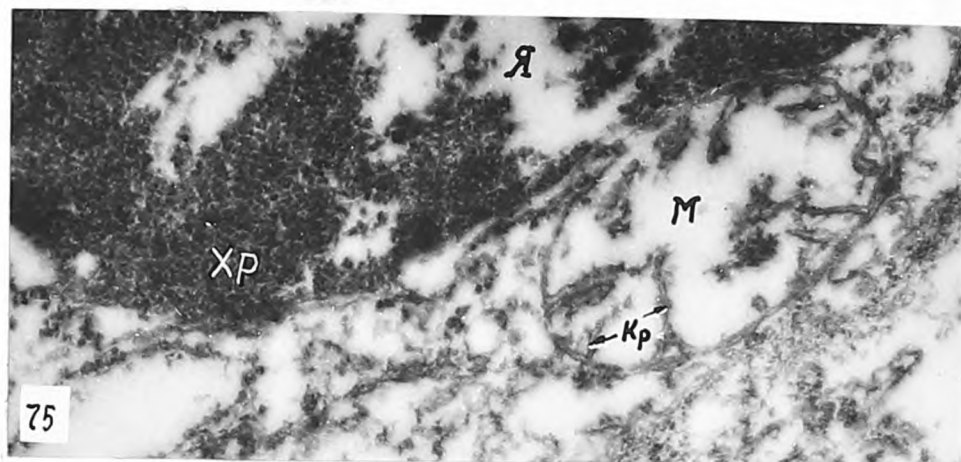
Лизосомы, комплекс Гольджи, а также клеточный центр в альвеолярных и эндотелиальных клетках в данных препаратах выявить не удалось.

Воздушно-кровеносный барьер на многих электронных микрофотографиях сохраняет типичное строение. Рис. 77 дает общее представление о сохранности ультраструктуры этого барьера.

Просветы альвеолы (А) и капилляра (К) разделены незначительно набухшими слоями выстилок эндотелиальных клеток (Энд) и цитоплазматических пластинчатых отростков (ПО) альвеолярных клеток типа I. Цитоплазма обеих выстилок просветлена, вакуолизирована (В) и содержит плотные осмиофильные комочки, особенно под плазматической мембраной (ПМ) пластинчатых отростков.

Базальная мембрана (БМ) заметно утолщена, с неровными, но четкими границами с обеих сторон. Электронная плотность ее резко снижена и вместо обычной гомогенности и бесструктурности она заполнена осмиофильными зернышками.

Находящийся в просвете капилляра эритроцит (Э) имеет типич-



Посмертные изменения в легких в условиях хранения
декапитированных крысят в холодильнике в течение
72 часов; х 24000.

(описание в тексте).

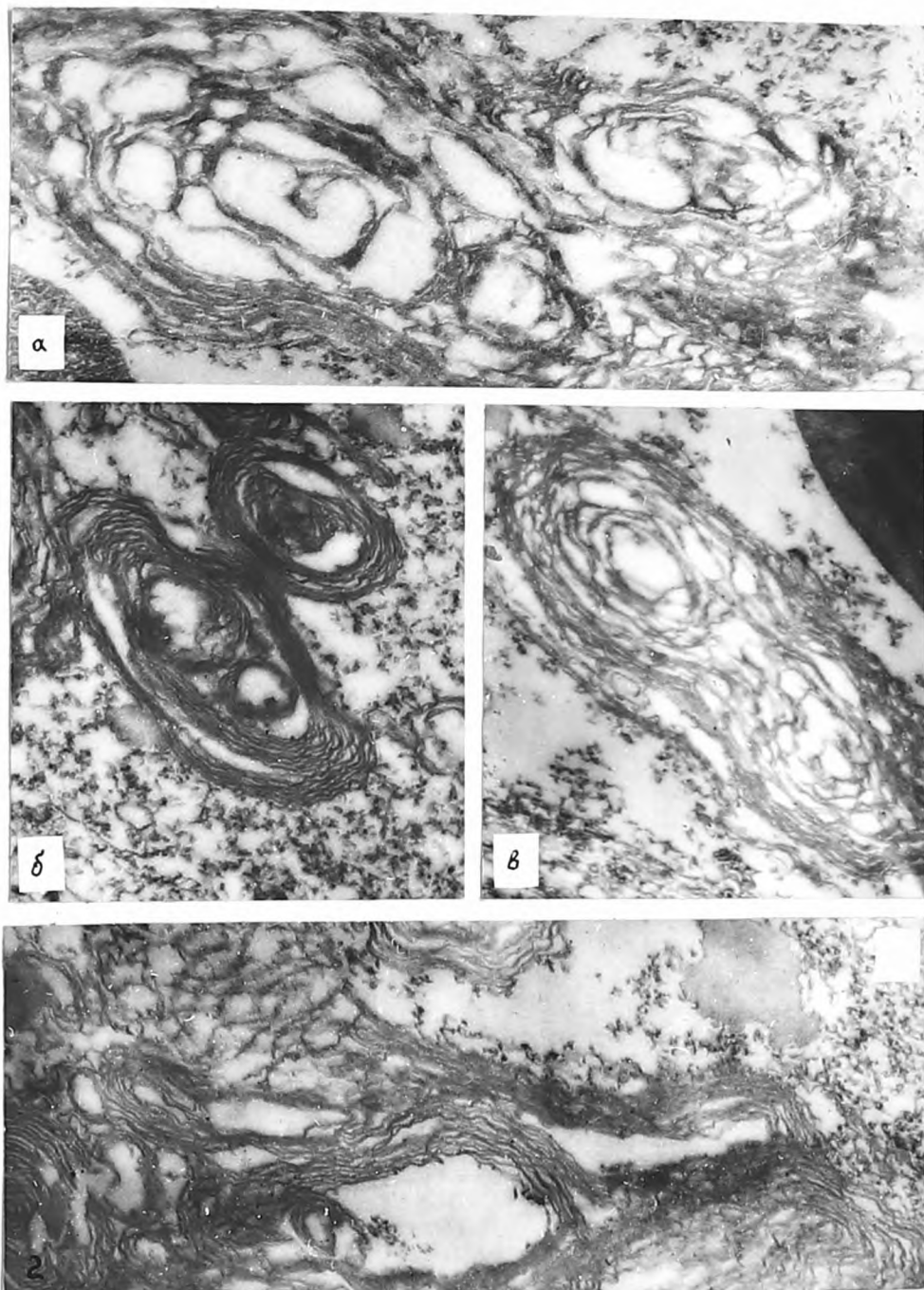
ый вид. Вокруг эритроцита и в просвете видны скопления комочков, по-видимому, плазменного белка.

Изменения ультраструктуры септальных клеток аналогичны описанным в альвеолярных и эндотелиальных клетках. Однако, в цитоплазме этих клеток выявляется большее количество сильно набухших митохондрий, которые, сливаясь между собой и, по-видимому, с канальцами эндоплазматического ретикулума, образуют многократно закрученные линии типа мизлиновых фигур.

На рис. 78 представлен участок септальной клетки. В месте соприкосновения двух набухших рпадающихся митохондрий (М) видна мизлиноподобная фигура (МФ), рядом с которой находится пластинчатое тело. Создается впечатление, что при дальнейшем слиянии указанных структур могут образоваться различные мизлиноподобные фигуры, которые часто видны в межклеточных пространствах альвеолярной перегородки (рис. 79).

Таким образом, в легких крыс, находившихся после декапитации при комнатной температуре в течение 72 часов, посмертные изменения проявились в полной деструкции ультраструктур альвеолярных, эндотелиальных и других клеток легочной ткани.

В легких крысят, находившихся после смерти в холодильнике в течение 72 часов, посмертные изменения по своему характеру были близки к изменениям, которые описаны в препаратах легких, полученных на протяжении 12 и 24 часов после смерти. Однако, несмотря на определенную сохранность плазматических мембран клеток, наружных мембран и крист у митохондрий, а также базальных мембран, в подобных легких обнаруживается резкая, фактически полная потеря электронной плотности нуклеоплазмы, матрикса митохондрий и матрик-



Посмертные изменения через 72 часа (легкое крысенка)
х 24000.

Рис. 79. Различная форма и размеры миелиноподобных фигур, обнаруживаемых в межклеточных пространствах альвеолярной перегородки.

на цитоплазмы всех клеток легочной ткани. Вакуоли в клетках также лишены какой-либо электронной плотности и выглядят совершенно светлыми.

В заключение описания динамики посмертных изменений в легких крысы и в легких плодов человека необходимо кратко остановиться на вопросе дифференцировки посмертных изменений ультраструктур клеток от изменений, которые могли возникнуть как артефакт вследствие полимеризационных повреждений.

На нашем материале в метакрилатных блоках выявлены следующие два типа полимеризационных повреждений.

Первый тип характеризуется тем, что изображение на электронных микрофотографиях состоит из очень мелких круглых зернышек. Эти зернышки находятся как бы во взвешенном состоянии на светлом фоне, так как вещество, составляющее матрикс цитоплазмы клеток и митохондрий, а также нуклеоплазмы, повидимому, полностью растворяется в метакрилатах и клетки становятся электроннооптически пустыми (светлыми).

Для второго типа полимеризационных повреждений характерно появление ячеистости (сыроподобной ноздреватости) в ядрах и в довольно плотном веществе, заполняющем всю клетку и межклеточные пространства в альвеолярной перегородке.

Указанные типы полимеризационных повреждений ультраструктуры легких в силу своих грубых проявлений хорошо распознаются и исключаются как артефакт, возникший в процессе подготовки образца для электронномикроскопического исследования.

В качестве иллюстрации вышеизложенного представлены следующие электронные микрофотографии легких, кусочки которых фиксиро-

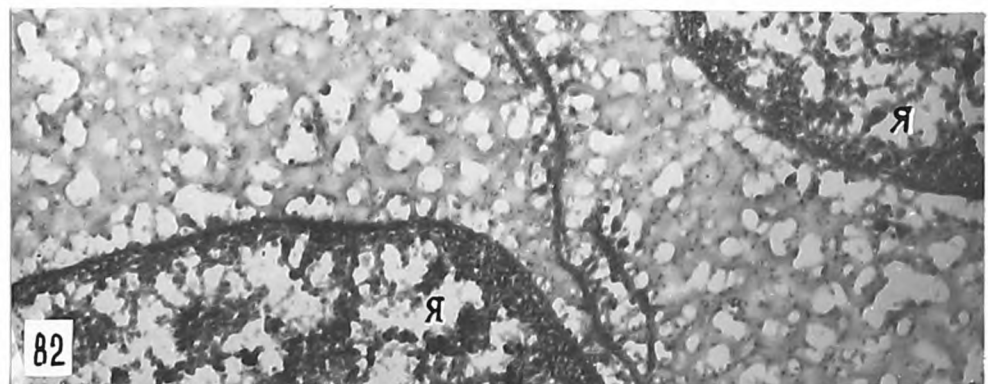
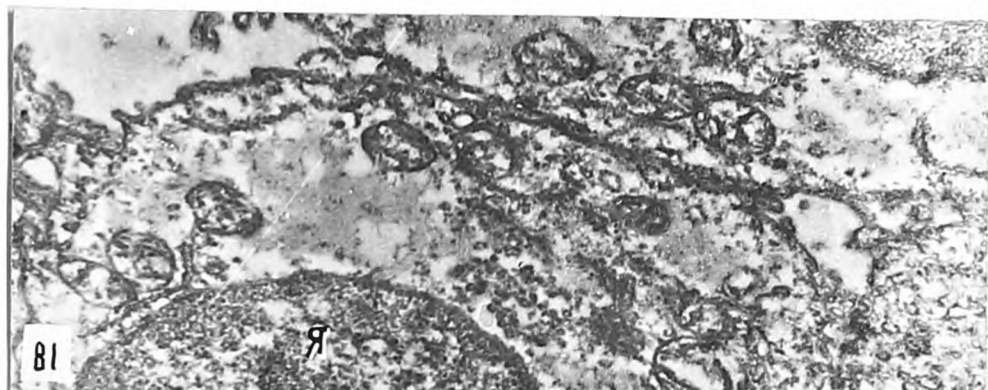
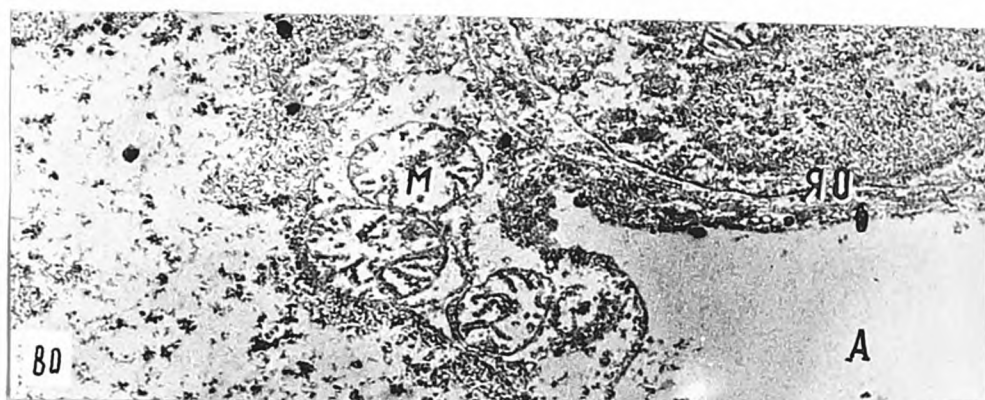
вались в четырехокиси осмия, заключались в смесь бутилметакрилата и метилметакрилата в пропорции 4:1 и полимеризовались с перекисью бензоила при температуре 50° в течение 18 часов. Срезы контрастировались в 2% водном растворе уранилацетата в течение 2-х часов.

На рис. 80 видны участки двух альвеолярных клеток в легких крысенка зафиксированных спустя 6 часов после смерти.

Плазматическая мембрана (ПМ) клеток, наружные мембраны и кристы митохондрий (М), а также ядерная оболочка (ЯО) и скопившийся под ней хроматин (Хр) состоят из мелких зернышек, примерно, одинакового размера и плотности. Все пространство между скоплениями зернышек совершенно светлое, как просвет альвеолы (А), то есть лишенное какой-либо электронной плотности. Подобное запускание клеток и мелкоточечное изображение всего рисунка совершенно не адекватно тем посмертным изменениям, которые описаны ранее в препаратах, исследованных через 6 часов после смерти.

На рис. 81 представлены участки двух смежных клеток в легких 19-недельного плода человека, зафиксированных через 3 часа после смерти. В отличие от рис. 80, в данном случае цитоплазма клеток заполнена веществом умеренной электронной плотности, а все видимые структуры также состоят из мелких зернышек. Вид разрушенных митохондрий резко отличается от ультраструктуры митохондрий спустя 3 часа после смерти.

Полимеризационные повреждения в виде ячеистости (рис. 82) настолько характерны, что определяются непосредственно на экране электронного микроскопа и исключаются как грубый артефакт.



Типы полимеризационных артефактов, выявленных в метакрилатных блоках (описание в тексте).

II. СУБМИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЛЕГКИХ ПЛОДОВ
И НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ
ОСТРОЙ ГИПОКСИИ

Изменения в легких плодов при внутриутробной
гипоксии

После перевязки пуповины у плодов на время от 5 до 45 минут выявлена следующая динамика изменений в легких.

Через 5 минут

Ультраструктура легких у крысиных плодов после 5-минутной гипоксии практически имеет такой же вид, как у крысиных плодов в контрольной группе. У последних субмикроскопическое строение легких, в частности ультраструктура альвеолярной и эндотелиальной выстилок, а также воздушно-кровеносного барьера, в своей основе соответствует структуре легкого у новорожденных крысят.

Следует подчеркнуть, что на электронных микрофотографиях фетальных легких не всегда представляется возможным дифференцировать альвеолы от альвеолярных ходов, так как те и другие содержат на стенках альвеолярные клетки типа II.

Особенностью альвеолярных клеток типа II является более подчеркнутый полиморфизм ультраструктуры митохондрий — от нормального вида, до митохондрий пластинчатого строения. Последний тип митохондрий показан на рис. 83, представляющим участок альвеолярной клетки типа II. В центре рисунка видна удлиненная митохондрия (М) выполненная волнистыми параллельными пластинками. Наружная оболочка не выявляется, однако пространство между кристами заполнено веществом, имеющим такую же плотность матрикса как в обычных, нормального вида митохондриях. Митохондрии (M_2 и M_3) находятся, по-видимому, в различных стадиях распада. Вокруг митохондрий в

цитоплазме разбросаны одиночные рибосомы (Р) и полирибосомы (ПР) в виде коротких цепочек и розеток. Видны также различного размера вакуоли (В) и несколько расширенные канальцы гладкого эндоплазматического ретикулума (ЭР).

Через 15 минут

Подобный период гипоксии характеризуется появлением в альвеолярных, эндотелиальных и септальных клетках митохондрий с заметными признаками набухания: увеличение размеров и округление митохондрий, увеличение межмембранного пространства крист и их искривление, локальное просветление матрикса.

В разных клетках, и особенно в альвеолярных клетках типа II, отчетливо заметно группирование митохондрий, включений типа войлокообразных и пластинчатых тел в периферических зонах клеток (рис. 84). В эндоплазматическом ретикумуле альвеолярных клеток заметно расширение ранее уплощенных канальцев и цистерн.

Как в альвеолярных, так и в других клетках, появляются вакуоли со светлым содержимым. Одни из них имеют довольно четкую оболочку, у других она не видна. В некоторых вакуолях, как бы во взвешенном состоянии, находятся образования, напоминающие мелкие лизосомы, но без оболочек.

Вышеизложенное можно проиллюстрировать рис.85, на котором виден участок альвеолярной клетки типа II, обращенный в просвет альвеолы.

Под плазматической мембраной (ПМ) клетки видно скопление пластинчатых тел (ПТ) и аморфных войлокообразных телец (ВТ). Видны также лизосомы, одна из которых повышено осmioфильна и гомогенна (Л₁), другие (Л₂ и Л₃) аморфной структуры, с нечеткими

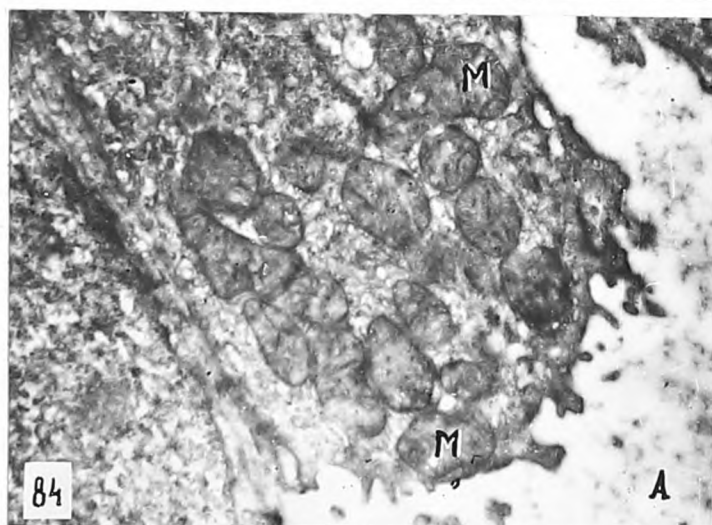
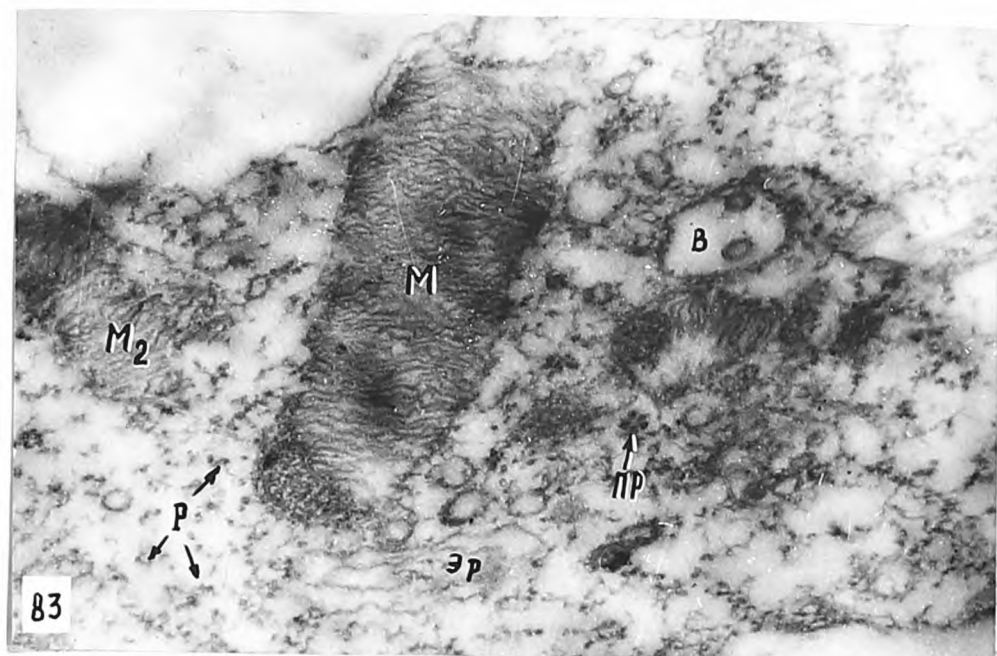


Рис. 83. Участок альвеолярной клетки типа II в легком крысиного плода (5 мин. внутриутробной гипоксии); $\times 25000$.
 M_1 - M_3 - митохондрии пластинчатого строения; Р - рибосомы; Пр - полирибосомы; ЭР - расширенные каналы эндоплазматического ретикулума.

Рис. 84. Группирование в периферической части альвеолярной клетки митохондрий через 15 мин. после перевязки пуповины у крысиного плода; $\times 13000$.

краями. Непосредственно под плазматической мембраной находится светлая вакуоль (В), ограниченная от цитоплазмы оболочкой. В двух вакуолях видны структуры, напоминающие лизосомы, лишенные оболочек.

Ч е р е з 25 минут

Ранее отмеченное группирование по периферии альвеолярных клеток митохондрий и других включений в данном случае резко выражено. Митохондрии сильно деформированы, наряду с этим отмечается также более выраженная вакуолизация гладкого, эндоплазматического ретикулула и расширение канальцев гранулярного ретикулула (рис. 86).

На поверхности альвеолярных клеток типа II, обращенных в просвет альвеол, заметно уменьшение количества микроворсинок и нарастание цитоплазматических выпячиваний (ЦВ) различной формы и величины, но без разрыва плазматической мембраны клеток (рис. 86). Аналогичные выпячивания видны также и у эндотелиальных клеток капилляров.

Какой-либо закономерности в изменении ультраструктуры ядер при данном сроке не выявляется, так как видимые локальные расширения перинуклеарных пространств, нечеткость в целом ядерных оболочек и некоторое просветление нуклеоплазмы с комкованием зерен хроматина весьма переменны в различных клетках легочной ткани.

Также переменны изменения базальной мембраны альвеолярной и эндотелиальной выстилок - от нормального вида, до заметного набухания с просветлением внутреннего пространства или, наоборот, истончения и потери четкости.

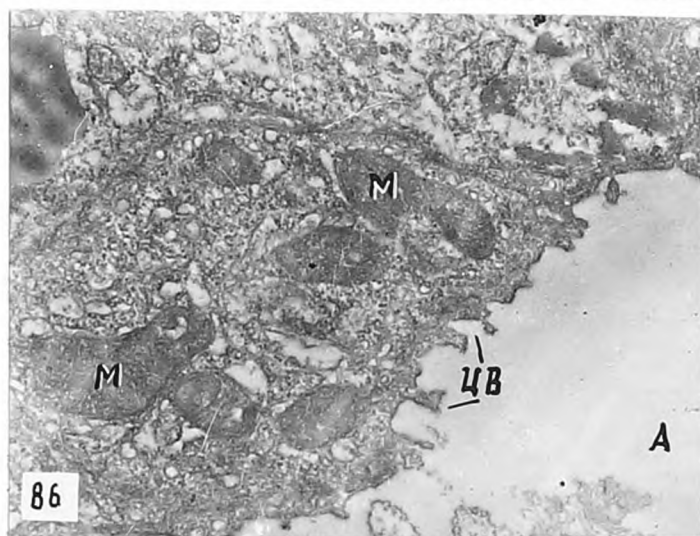
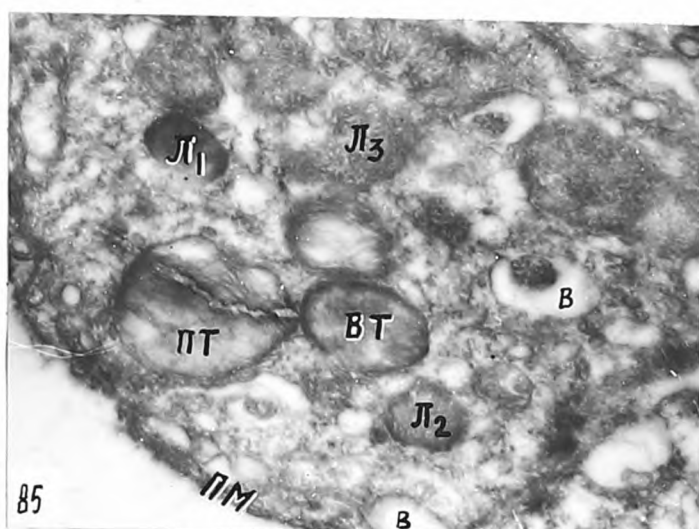


Рис. 85. Скопление под плазматической мембраной клетки пластинчатых телец (ПТ), образований типа лизосом (L_1-L_2), вакуолей и других включений (15 мин. внутри утробной гипоксии); $\times 25000$.

Рис. 86. Изменение формы митохондрий (М), вакуолизация эндоплазматического ретикулума (ЭР) в альвеолярной клетке типа II через 25 мин после перевязки пуповины у крысиного плода; $\times 12000$.

Через 35 минут

К этому времени выявляются выраженные повреждения ультра - структур самых различных клеток легочной ткани. Характер этих повреждений, примерно, одинаков в различных клетках, но наибольшие изменения видны в альвеолярных клетках типа II, возможно, в силу большого наличия в них митохондрий и других включений.

Поверхность альвеолярных клеток, обращенных в просвет воздушных пространств, весьма неровная из-за многочисленных выпячиваний и вдавливания цитоплазмы.

Форма ядер альвеолярных клеток выраженных изменений не претерпела. Просветление нуклеоплазмы и конгломерирование хроматина возросло незначительно (рис. 87).

Плотность основного вещества цитоплазмы альвеолярных клеток заметно снижена, что придает клеткам светлый вид. Эндоплазматический ретикулум в подавляющем большинстве альвеолярных клеток резко вакуолизирован, а типичные каналцы гранулярного ретикулума являются очень редко. Среди вакуолированных элементов эндоплазматического ретикулума в цитоплазме клеток видны одиночные или в виде мелких скоплений рибосомы. Однако выраженной убыли рибосом не отмечается.

Митохондрии альвеолярных клеток претерпели наибольшие изменения, однако, эти изменения по-прежнему переменчивы в различных клетках. Матрикс митохондрий электроннооптически "пустой", и на его светлом фоне видны немногочисленные деформированные кристы - в одних случаях, фрагменты и остки крист под внутренней оболочкой - в других случаях. Двойная наружная оболочка определяется у немногих митохондрий. Чаще внутренние и наружные мембраны оболочки вы-

глядят слившимися, нечеткими, иногда с разрывами. Форма большинства митохондрий изменена и они имеют нерезкие контуры. Количество митохондрий в клетках заметно снижено.

Наряду с описанными митохондриями в альвеолярных клетках типа II видны митохондрии с поперечно расположенными пластинчатыми кристами, которые сильно искривлены и разделены довольно обширными и совершенно светлыми участками матрикса.

Пластинчатые тела при данном сроке гипоксии встречаются редко, и они выглядят очень осmioфильными, с небольшим количеством концентрически расположенных пластин, которые либо искривлены, либо начинают распадаться на отдельные фрагменты.

Для данного периода гипоксии характерно наличие в просвете воздухоносных путей войлокообразных и пластинчатых тел, резко деформированных митохондрий с пластинчатым расположением крист или отдельных фрагментов распавшихся митохондрий.

Лизосомы типичной структуры в альвеолярных клетках нами не обнаружены. Липидных же капель в данных препаратах заметно больше.

В стенках капилляров, граничащих с просветом альвеол, то есть в будущих функциональных участках воздушно-кровоносного барьера, цитоплазма пластинчатых отростков альвеолярных клеток типа I и эндотелиальных клеток заметно набухшая, светлая, с наличием различного размера вакуолей и мелких пузырьков. Набухание и утолщение в одних случаях более заметно у пластинчатых отростков, в других в эндотелиальных клетках.

Изменения митохондрий, эндоплазматического ретикулума ядер и других органоидов септальных клеток также весьма вариабельны и близки к изменениям в клетках альвеолярной и эндотелиальной высти-

лок.

Через 45 минут

К этому времени у всех плодов каких-либо движений или судорожных сокращений тела не наблюдалось.

На электронных микрофотографиях выявляется весьма полиморфный характер повреждения ультраструктур клеток.

Плазматическая мембрана альвеолярных и эндотелиальных клеток нечеткая, размытая, с разрывами. Межклеточные границы также нечеткие, иногда с мешковидными расширениями.

Ядра клеток с обширными участками просветления нуклеоплазмы, но без скопления и уплотнения хроматиновых комков под ядерной оболочкой. Последняя у многих ядер имеет расширенные перинуклеарные пространства, однако форма ядра при этом сохраняется и растворение хроматиновых зерен в окружающей цитоплазме не отмечается (рис. 88).

В светлой цитоплазме клеток гладкие и гранулярные формы эндоплазматического ретикулума не дифференцируются, одиночные рибосомы встречаются редко, бесформенные скопления их еще видны.

Митохондрии типичной структуры также встречаются редко. В большинстве случаев они представляют собой неправильной формы совершенно светлые вакуоли, под оболочкой которых видны обрывки крист. У многих вакуолеподобных митохондрий видны разрывы наружной оболочки.

В альвеолярных клетках типа II, а также в просвете альвеол, видны распадающиеся митохондрии, пластинчатые и войлокообразные тельца (рис. 89). Лизосомы неопределяются. Липидные капли разбросаны по цитоплазме клеток, особенно септальных. Они видны также в просвете альвеол и капилляров и в межклеточном пространстве

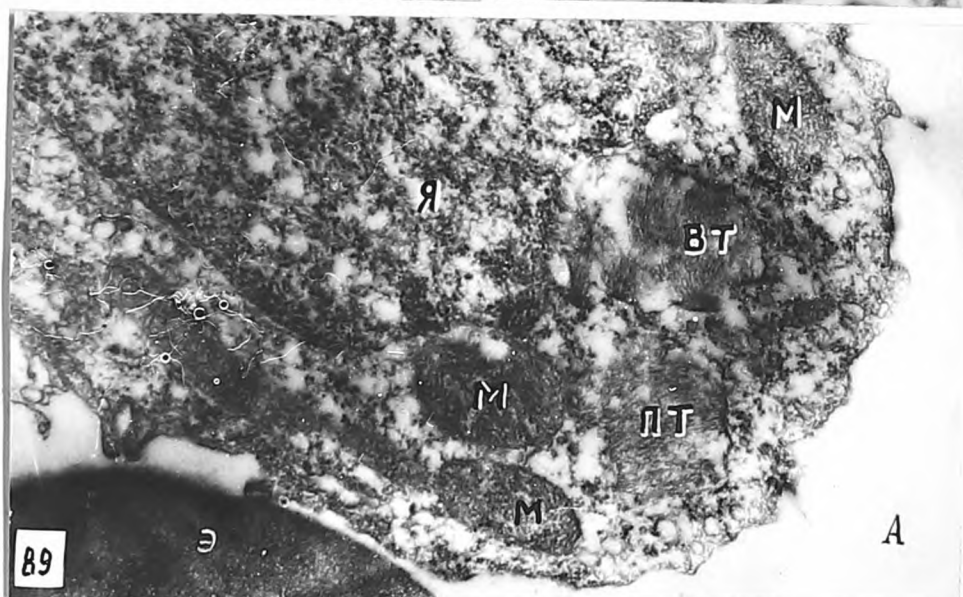
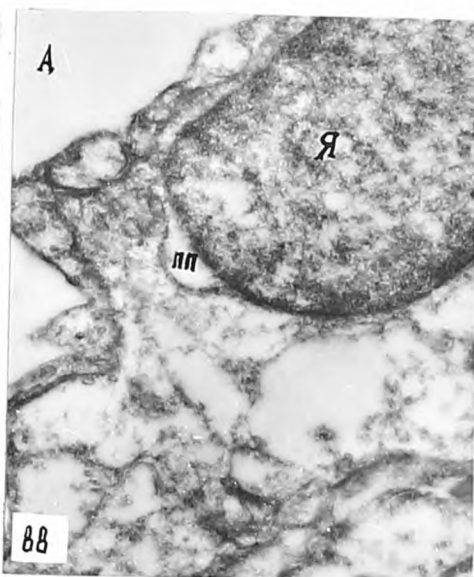
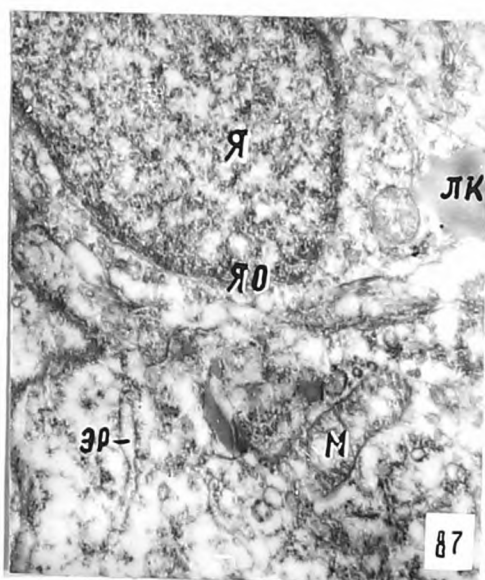


Рис. 87. Незначительное просветление нуклеоплазмы и агрегирование зерен хроматина (Хр) в ядре альвеолярной клетки (35 мин. внутриутробной гипоксии); $\times 12000$.

Рис. 88. Резкое просветление нуклеоплазмы, расширение перинуклеарного пространства (Пп) ядра альвеолярной клетки через 45 мин. после перевязки пуповины у крысиного плода; $\times 10000$.

Рис. 89. Распадающиеся митохондрии (M_1-M_2), вакуолизация эндоплазматического ретикулума, выраженное агрегирование ядерного хроматина (Хр) в альвеолярной клетке (45 мин. внутриутробной гипоксии); $\times 12000$.

межалвеолярной перегородки.

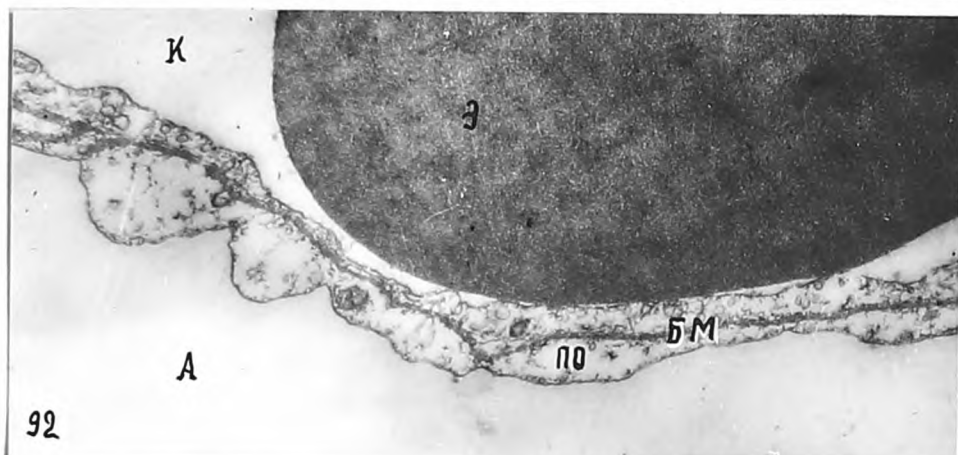
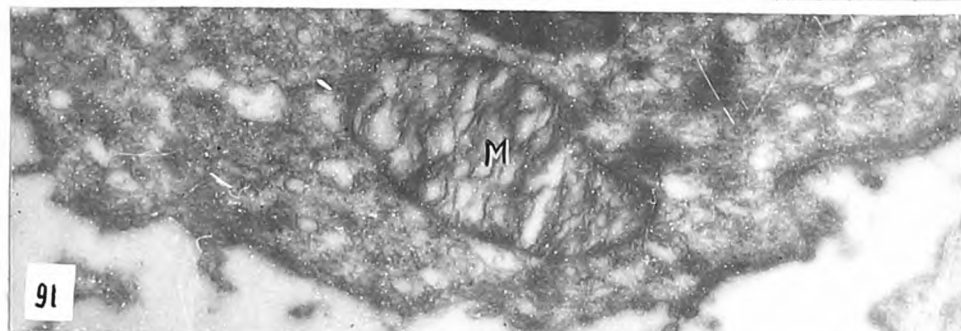
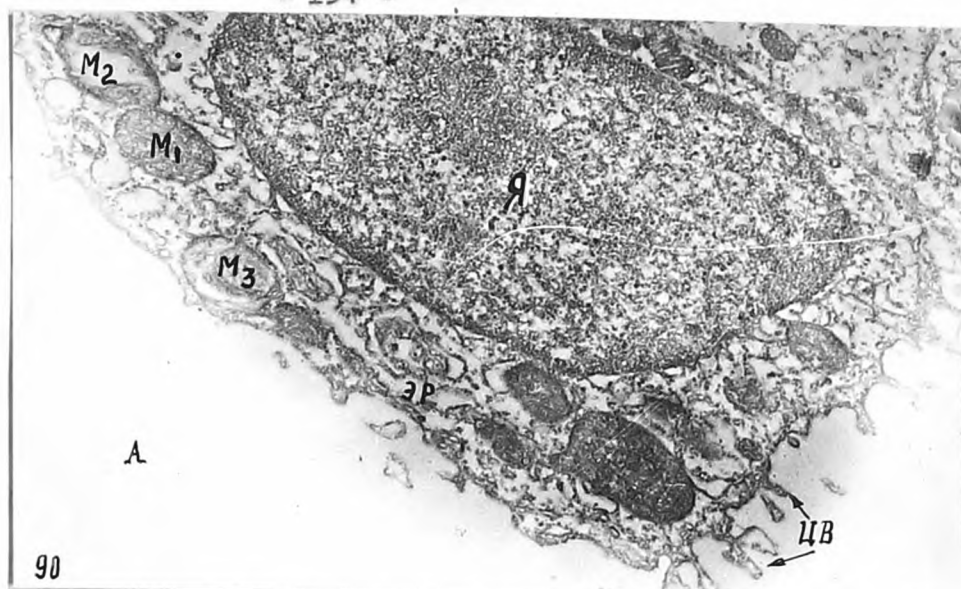
Базальные мембраны альвеолярной и эндотелиальной выстилок нечеткие, состоящие из мелких зернышек слабой электронной плотности. Иногда же они повышенно осмиофильны, особенно в области воздушно-кровеносного барьера. В этих участках выстилка пластинчатых отростков альвеолярных клеток и эндотелия резко утолщена, с разрывами плазматических мембран, с выходением светлых вакуолей и пузырьков в просвет альвеол и капилляров.

Таким образом, при внутриутробной острой гипоксии ультраструктурные изменения клеток легочной ткани крысиных плодов нарастают постепенно и по степени выраженности весьма переменны в различных клетках.

В течение первых 15 минут гипоксии в альвеолярных клетках отмечается группирование митохондрий и других включений. При дальнейшем увеличении времени гипоксии в скопившихся в периферических зонах клеток митохондриях, в эндоплазматическом ретикулуме и в других структурах клеток и элементах легочной ткани изменения приобретают деструктивный характер, с наиболее сильным повреждением мембранных систем клеток.

Изменения в легких при острой гипоксии,
вызванной путем пребывания крыс^ы в замкнутом
пространстве

Для исследования изменений ультраструктуры клеток легочной ткани, происходящих в короткие промежутки гипоксического состояния, новорожденные крысята (по 3 крысенка) помещались в специальные герметичные боксы объемом в 135 см³. В таком замкнутом объеме происходило относительно быстро постепенное нарастание гипоксии с гиперкапнией. Спустя 5, 15, 30, 45 минут и



Изменения в легких крысят через 30 мин. острой гипоксии.

Рис. 90. Ультраструктура альвеолярной клетки типа II (описание в тексте); $\times 5000$.

Рис. 91. Просветление матрикса в пластинчато преобразованной митохондрии (М); $\times 13000$.

Рис. 92. Участок воздушно-кровеносного барьера с признаками внутрицитоплазматического отека; $\times 12000$.

1,2 и 3 часа после начала опыта крысы декапитировались и легкие забирались для исследования.

При анализе результатов данной серии опытов выявлена следующая динамика субмикроскопических изменений в легких.

Через 5 минут

Под световым микроскопом каких-либо изменений в легких не обнаруживается. Встречающиеся в некоторых участках легкого заметно утолщенные межалвеолярные перегородки с отдельными эритроцитами, а иногда наличие эритроцитов вне капилляров были видны также и в легких крыс контрольной группы.

В электронном микроскопе также не выявляется каких-либо отклонений от нормальной ультраструктуры легких, отмеченной в контрольной группе.

Через 15 минут.

В легких под световым микроскопом по-прежнему каких-либо изменений не выявляется.

Электронномикроскопически в клетках альвеолярной и эндотелиальной выстилок обнаруживается начинающееся группирование митохондрий. Последние, однако, сохраняют свою нормальную структуру и плотность матрикса. Тенденция митохондрий к группированию более заметна в альвеолярных клетках типа II. Изменений других ультраструктур клеток не отмечено.

Через 30 минут.

Световая микроскопия выявляет в некоторых участках легкого утолщение межалвеолярных перегородок за счет инфильтративно-пролиферативных процессов в них (преимущественно за счет гистиоцитов и в меньшем количестве лимфоцитов). Вид ядер полиморфен. У од-

них контуры четкие. Другие несколько пикнотичны, что обнаруживается не столько по гиперхромности ядер, сколько по зубчатости рисунка оболочки ядра. Встречаются ядра почти без хроматина, а также ядра, в которых хроматин сосредоточен под оболочкой. Подобных ядер немного.

Просвет большинства бронхов растянут. Артериолы и венулы расширены, переполнены эритроцитами. Вокруг некоторых сосудов мышечный слой тусклый. Встречается умеренное расширение периваскулярной ткани. Аргирофильные волокна без изменений.

Электронномикроскопически выявляются следующие изменения. Клетки альвеолярной выстилки имеют неповрежденную плазматическую мембрану. В размерах они не увеличены. Микроворсинки на свободной поверхности клеток типа II чаще сглажены, тогда как цитоплазматические выпячивания (ЦВ), часто неправильной формы, заметно увеличиваются и в числе и в размерах (рис. 90).

Большинство ядер альвеолярных клеток без видимых изменений, но в некоторых из них отмечается просветление нуклеоплазмы за счет склеивания зернышек хроматина, с образованием гранул и комочков. Однако, говоря об изменении ядер и, в целом, различных ультраструктур клеток, мы еще раз подчеркиваем весьма выраженную "мозаичность" (Д.С. Саркисов и Б.В. Втюрин, 1967) во внешнем виде различных органоидов и включений не только в норме, но и при слабо выраженных патологических воздействиях.

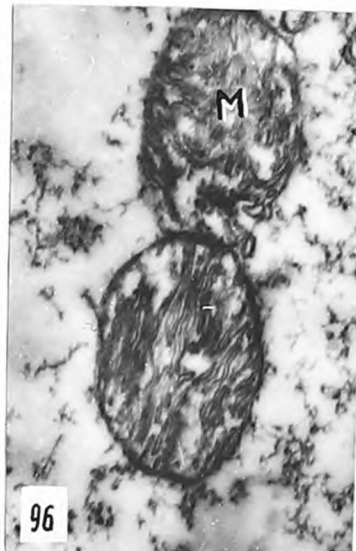
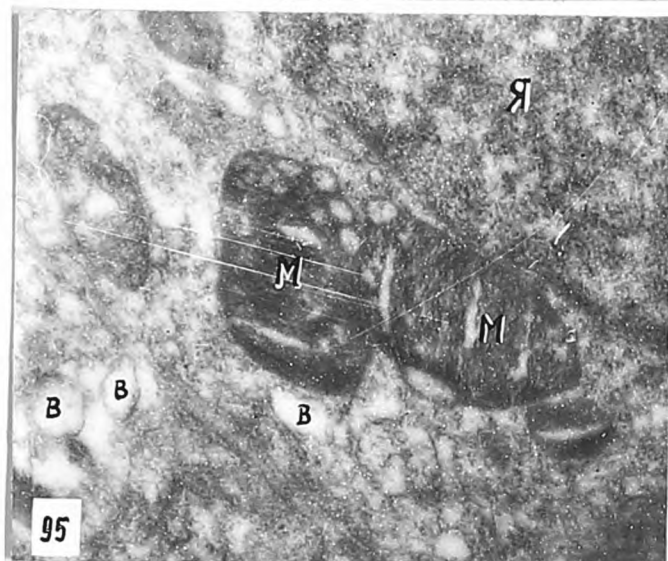
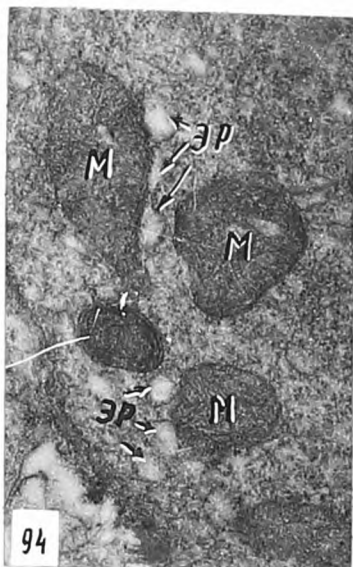
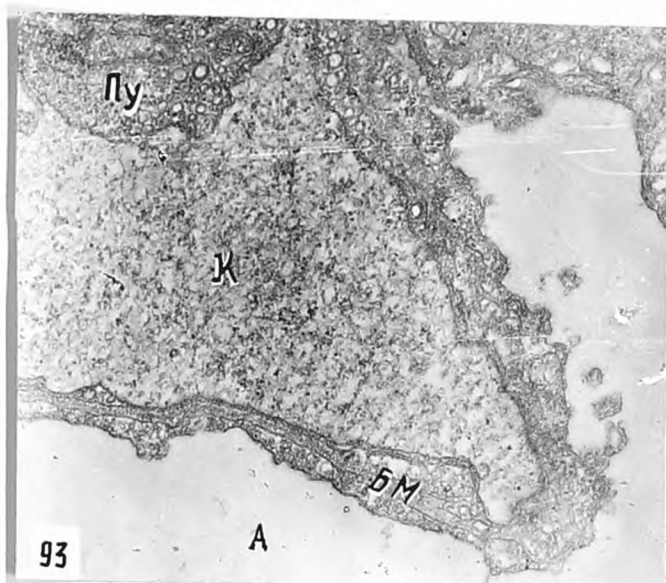
Характерным же для альвеолярных клеток в этом периоде гипоксии является появление в них большего, чем в норме, количества митохондрий с пластинчатым расположением крист. Вид подобных митохондрий весьма различен и зависит, по-видимому, от стадии "пластинчатого преобразования" (Schulz, 1959) обычных митохондрий.

Эти митохондрии разбросаны среди скоплений митохондрий, имеющих либо интактный вид (M_I), либо находящиеся в различной степени структурной дезорганизации (M_2, M_3) (рис. 90). Довольно часто в альвеолярных клетках типа II видны митохондрии, выполненные поперечно расположенными искривленными пластинками, между которыми видны светлые участки матрикса (рис. 91).

В альвеолярных клетках типа I митохондрии с пластинчатым расположением крист обнаруживаются крайне редко. Митохондрии же типичной структуры претерпели изменения по типу резкого набухания: округление формы, искривление и уменьшение числа крист, локальное просветление матрикса, иногда появление вакуолей в матриксе.

В области воздушно-кровеносного барьера пластинчатые отростки альвеолярных клеток типа I имеют местные изменения. Эти изменения в одних случаях проявились в довольно резком набухании и выпячивании в просвет альвеолы цитоплазмы, без повреждения, однако, плазматической мембраны (рис. 92). В других — пластинчатые отростки имеют обычный вид, с умеренным количеством пиноцитозных пузырьков. В обоих случаях не отмечается заметного увеличения размеров петель капилляров, просвет которых большей частью свободен от плазмы крови. Однако и в тех случаях, когда просвет капилляра полностью выполнен плазмой крови, содержащей большое количество, по-видимому, плазменного белка, резкого расширения и истончения капиллярной стенки не выявляется, но количество пиноцитозных пузырьков и мелких вакуолей заметно повышено (рис. 93).

Ультраструктура септальных клеток при данном сроке гипоксии претерпела меньшие изменения, чем клетки альвеолярной и эндо-



Изменения в легких крысят через 30 мин. острой гипоксии.

Рис. 93. Большое количество пиноцитозных пузырьков (Пу) в цитоплазме эндотелия (энд) и пластинчатого отростка (ЛО); x 10000.

Рис. 94. Участок септальной клетки. Измененные в форме митохондрии имеют повышенную плотность матрикса. Вокруг митохондрий видны расширенные цистерны эндоплазматического ретикулума (показано стрелками); x 10000.

Рис. 95. Вакуолизация и просветление матрикса пластинчато измененных митохондрий; x 13000.

Рис. 96. Митохондрии с большим количеством крист; x 25000.

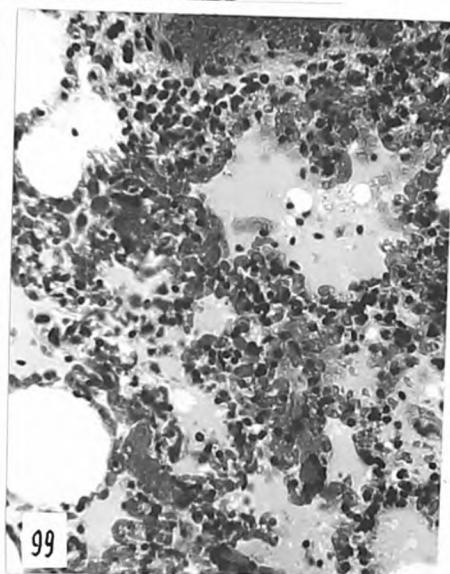
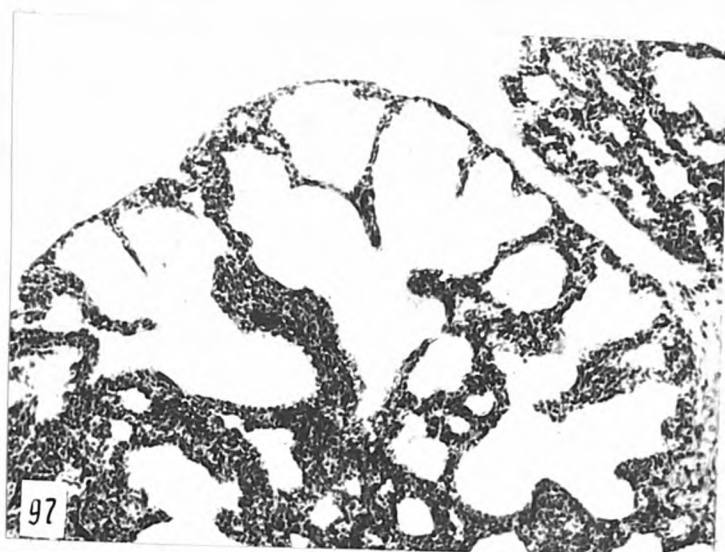


Рис. 97. Субплевральные участки эмфиземы в легком крысенка (-45 мин. острой гипоксии). Окраска гематоксилин-эозином; $\times 63$.

Рис. 98. Фрагментация аргирофильных волокон в межальвеолярной перегородке легкого крысенка через 60 мин. острой гипоксии; $\times 630$.

Рис. 99. Внутриальвеолярные кровоизлияния, отекающая жидкость и слущенный эпителий в просвете альвеол в легком крысенка (I час острой гипоксии). Окраска гематоксилин-эозином; $\times 280$.

гелиальной выстилок. Но для этих клеток характерно скопление в их цитоплазме измененных в форме митохондрий. В одних клетках видны неправильной формы митохондрии, которые выполнены большим количеством беспорядочно расположенных тонких крист. Эти митохондрии (М) имеют нормальную плотность, и около них часто видны расширенные цистерны эндоплазматического ретикулума (показано стрелками на рис. 94). Характерно, что цитоплазма септальных клеток не выглядит пустой: в ней разбросано большое количество рибосом (Р) и мелких вакуолей (рис. 94, 95).

В других септальных клетках как в периферических участках, так и непосредственно около ядра видны митохондрии с плотно упакованными и слившимися между собой осmioфильными кристами. Иногда в таких митохондриях видны светлые мелкие вакуоли и щелевидные пространства (рис. 95). На рис. 96 показаны две митохондрии, находящиеся в межклеточном пространстве альвеолярной перегородки. Видно обилие тонких удлинённых крист. Просветление матрикса митохондрий и светлый фон межклеточного вещества обусловлены, вероятно, полимеризационными повреждениями при заливке в метакрилаты.

В ультраструктуре волокнистых образований межалвеолярной перегородки изменений не отмечено, и как у ретикулиновых, так и у коллагеновых волокон видна обычная поперечная исчерченность.

Через 45 минут и 1 час.

В гистологических препаратах легких, взятых через данное время после начала опыта, наблюдались утолщение межалвеолярных перегородок за счет расширения капилляров и переполнения их эритроцитами, преимущественно растянутые бронхи, субплевральные крупные участки эмфиземы, появление в параваскулярной ткани отекающей жид-

кости (рис. 97). Во многих альвеолярных и септальных клетках были видны либо тусклые, мутные ядра, либо повышено базофильные, без четких контуров. Отмечалась фрагментация аргирофильных волокон, особенно волокон в краевых частях межалвеолярной перегородки (рис. 98). В последней видны были очаговые кровоизлияния, с выходом эритроцитов в соседние альвеолы, содержащие отечную жидкость, иногда клетки слущенного эпителия (рис. 99).

Ультраструктурные изменения при этих сроках гипоксии мы описываем вместе, так как они оказались весьма сходными.

Плазматическая мембрана большинства альвеолярных клеток выглядит не поврежденной. Однако на свободной поверхности клеток цитоплазматические выпячивания в виде коротких пальцеобразных отростков заметно увеличились не только в числе, но и в размерах. Иногда в таких выпячиваниях видны включения в виде липидных капелек (ЛК), вакуолей, измененных митохондрий и пластинчатых телец (рис. 100).

Группирование митохондрий в данном периоде гипоксии наиболее выражено. Более выраженными также являются изменения пластинчатых и войлокообразных телец. Эти изменения особенно заметны в клетках с ультраструктурой альвеолярных макрофагов (*Polisard et al* 1957; Поликар и Бо, 1962 и др.). В цитоплазме этих клеток видны светлые вакуоли с четко ограниченной осmioфильной оболочкой, имеющей ту же плотность, что и у фрагментов разрушенных пластинок пластинчатых телец. На рис. 101 пластинчатое тельце (ПТ₁) характеризуется уже заметно начавшимся разволокнением concentрических пластинок (показано стрелками) и появлением широких щелевидных пространств, раздвигающих пластинки. Другое пластинчатое тельце (ПТ₂) меньших размеров, с немногочисленными утолщенными пластинками. Третье и

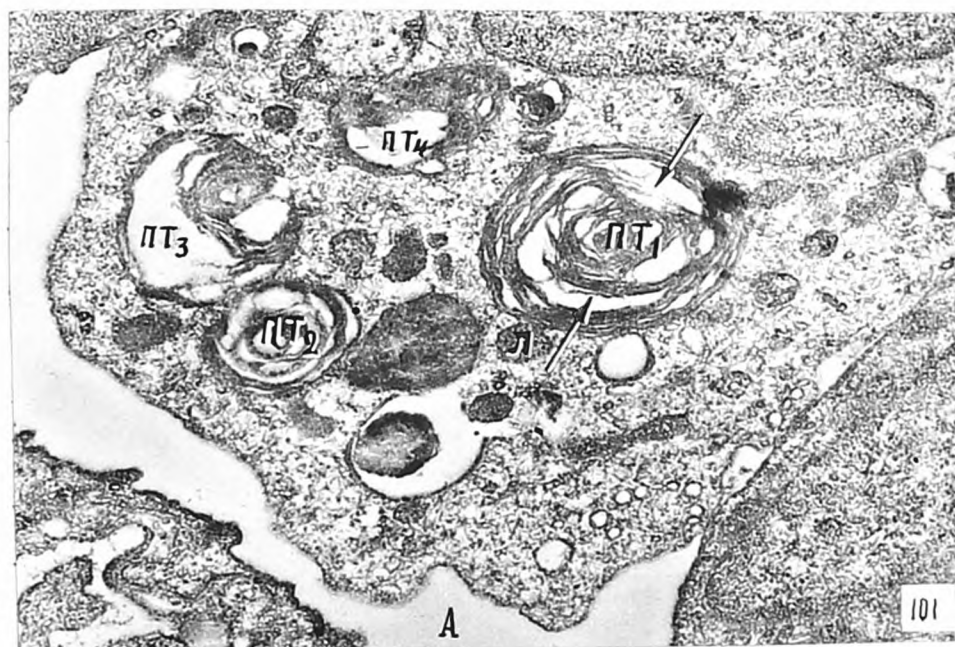
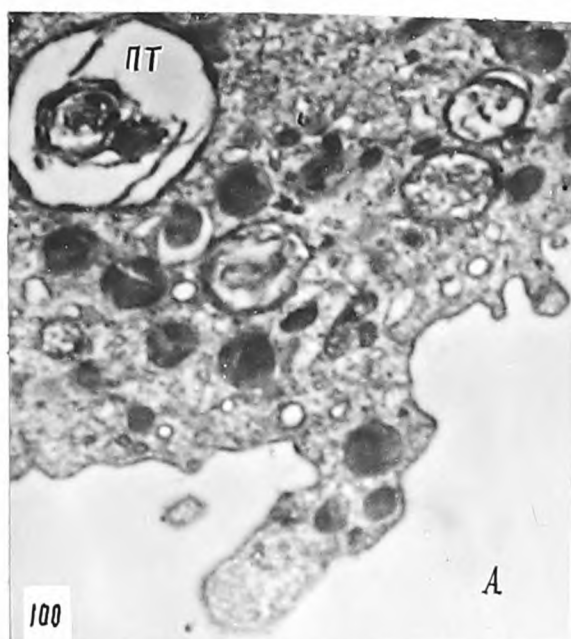


Рис. 100. Появление у альвеолярных клеток в легком кры-сенка цитоплазматических отростков, содержащих различ-ные включения клетки (45 мин. острой гипоксии); $\times 8000$.

Рис. 101. Изменение пластинчатых телец в альвеолярной клетке (I час острой гипоксии); $\times 8000$.

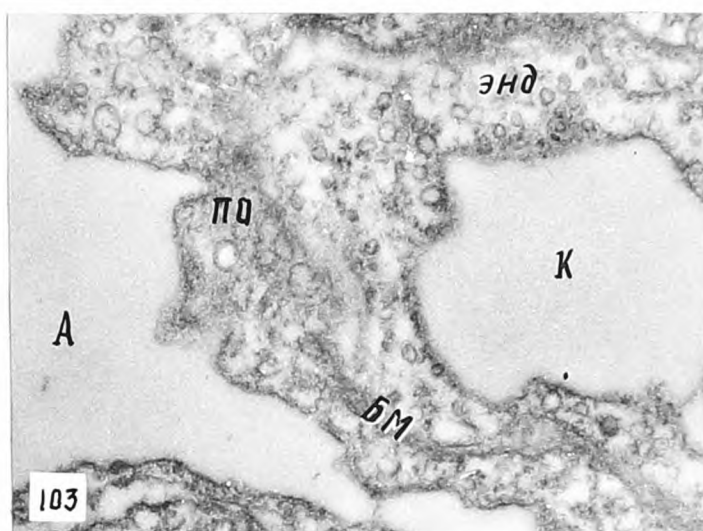
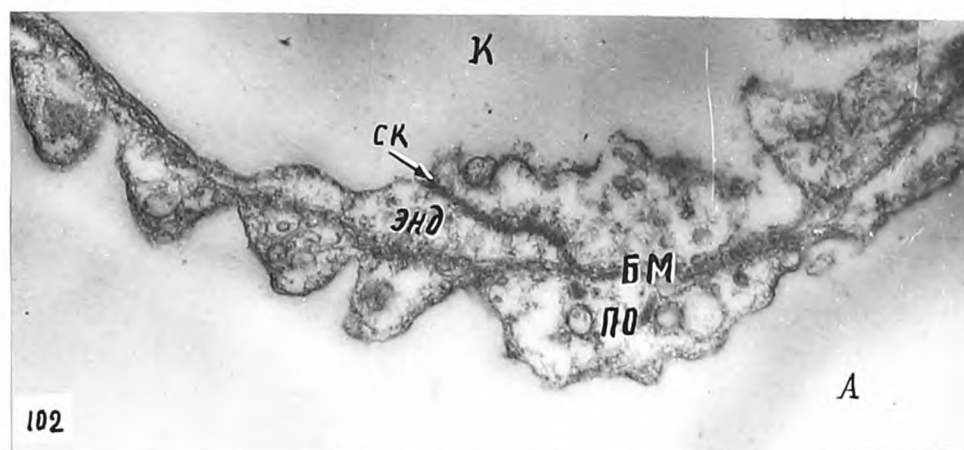


Рис. 102. Различная степень внутрицитоплазматического отека эндотелия (энд) и пластинчатого отростка (ПО) в участке воздушно-кровенного барьера в легком крысенка (I час острой гипоксии); $\times 10000$.

Рис. 103. Большое количество пиноцитозных, пузырьков, распределенных по всей толще капиллярной стенки (45 мин. острой гипоксии); $\times 10000$.

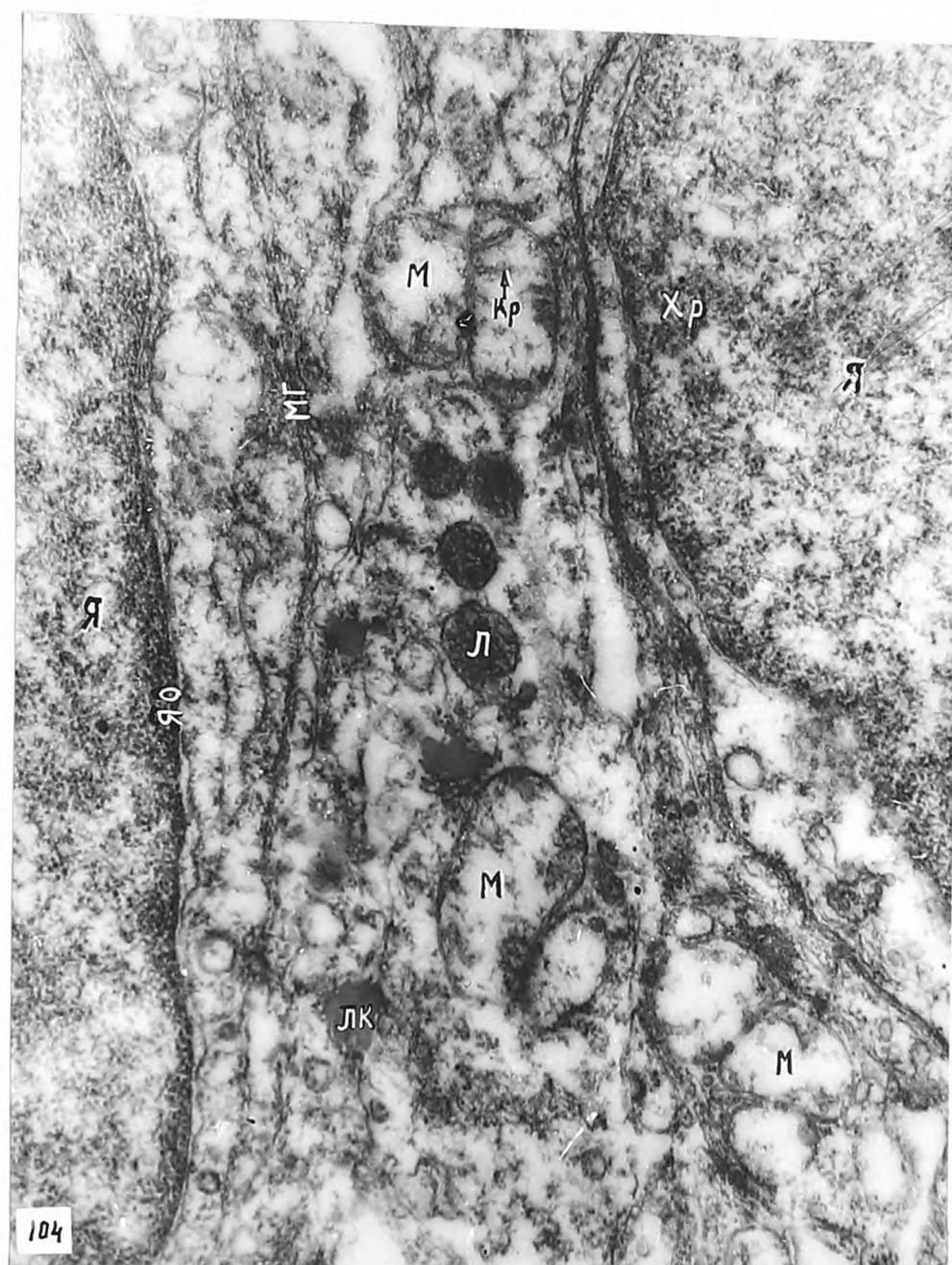


Рис. 104. Изменения в ультраструктуре септальных клеток в легком крысенка (1 час. острой гипоксии); х 12000.
(описание в тексте).

четвертое тельца резко изменены, отдельные пластинки не определяются. Образование в виде лизосом (Л), но без оболочек, разбросаны в цитоплазме. Однако, мы не уверены, что эти структуры, тем более при данном сроке гипоксии, идентичны лизосомам.

В Ультраструктуре ядер альвеолярных клеток дополнительных изменений не обнаружено. Не обнаружено также резких изменений в количестве и распределении рибосом, которые в одних клетках более или менее равномерно распределены в цитоплазме, в других их меньше и они собраны в мелкие скопления.

Изменения в альвеолярных клетках типа I, а также в эндотелиальных клетках, наиболее выражены в области воздушно-кровеносного барьера. Характерным для этих изменений является нарастание внутриклеточного отека. Степень выраженности этого отека весьма вариабельна: от незначительного местного набухания цитоплазмы, до резкого утолщения эндотелия капилляров, с появлением в последнем большого количества пиноцитозных пузырьков и вакуолей.

Так, на рис. 102, представляющим участок воздушно-кровеносного барьера, отчетливо видны многочисленные выбухания пластинчатых отростков (ПО) с большей или меньшей степенью просветления цитоплазмы и наличием пиноцитозных пузырьков и вакуолей. В участках между двумя зубовидными выбуханиями в области стрелки просматривается очень тонкий слой цитоплазмы. Мы не обнаружили при данном сроке гипоксии обнаженных участков базальной мембраны между двумя соседними набухшими участками цитоплазмы как у пластинчатых отростков, так и в эндотелии капилляров.

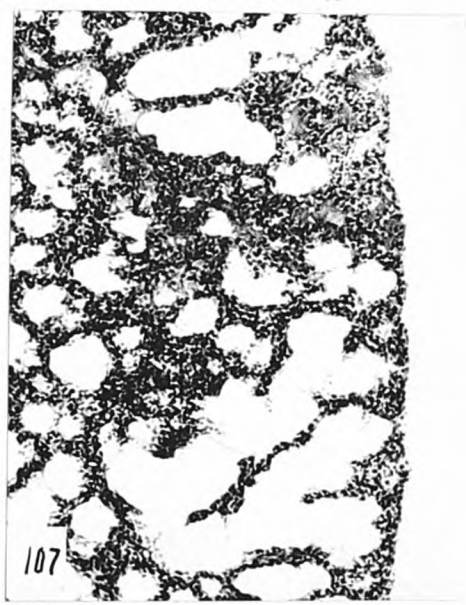
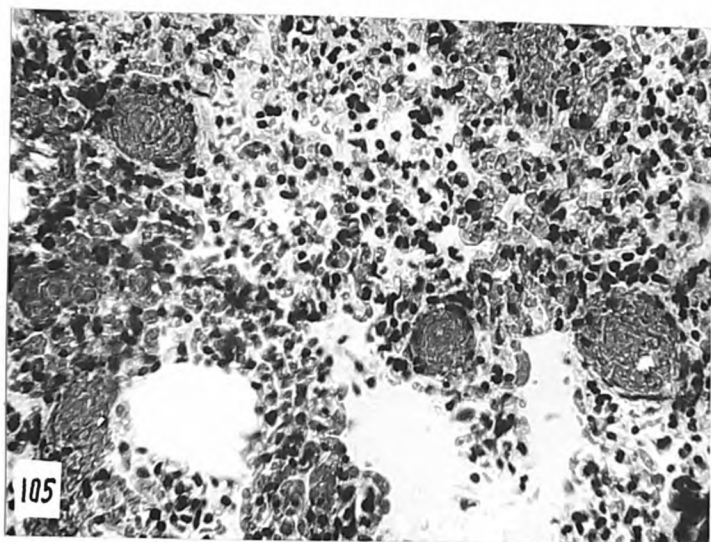
Слой эндотелиальной выстилки на данном рисунке также имеет изменчивую толщину - от едва уловимого тонкого слоя (ЭНД) - до

выраженного утолщения, с образованием неровного края, ограниченного четкой плазматической мембраной. В участках, обозначенных двойными стрелками, видны разрывы плазматической мембраны эндотелия. Однако, нет уверенности в том, что подобные разрывы не могут быть артефактом, вызванным обработкой материала. В центре рисунка хорошо заметно соединение двух эндотелиальных клеток (СК). Две слившиеся между собой плазматические мембраны образовали плотную осмиофильную линию, соединяющуюся с базальной мембраной, которая в данном участке воздушно-кровеносного барьера выглядит нечеткой, местами размытой. В тех случаях, когда в поле зрения попадали участки соединения двух эндотелиальных клеток, мы не отметили расширения межклеточного пространства или образования в этом месте полостей с обнажением базальной мембраны.

В других случаях в сильно набухшем эндотелии (ЭНД) и в пластинчатых отростках (ПО) видно большое количество пиноцитозных пузырьков, которые находятся как непосредственно под плазматической мембраной эндотелия, так и по всей толще капиллярной стенки (рис. 103).

В клетках выстилки респираторных бронхиолах, в частности в их специализированных частях — мерцательных ресничках, каких-либо изменений не выявлено.

В септальных клетках выявляется довольно пестрая картина изменений ультраструктур. Ядра большинства клеток имеют обычную структуру или в них видно незначительное разряжение нуклеоплазмы. В цитоплазме одних клеток видны умеренно расширенные канальцы эндоплазматического ретикулума, в других эти канальцы почти не выявляются. Однако, на таком почти нормальном фоне довольно часто видны скопления митохондрий с резко выраженными признаками на-



Изменения в легком крысенка через 2 часа острой гипоксии

Рис. 105. Переполнение капилляров кровью, массивные внутриальвеолярные кровоизлияния. Окраска гематоксилин-эозином; х 280.

Рис. 106. Разрыхление соединительнотканых периваскулярных и перибронхиальных пространств отеочной жидкостью. Окраска гематоксилин-эозином; х 140.

Рис. 107. Участки эмфиземы и внутриальвеолярных кровоизлияний в субплевральной области. Окраска гематоксилин-эозином; х 63.

бухания.

На рис. 104 видны участки трех септальных клеток. В двух ядрах (Я) хроматин (ХР) более или менее равномерно распределен. Ядерные оболочки (ЯО) четкие, с нерасширенными перинуклеарными пространствами (ПН). Плазматические мембраны в межклеточных границах (МГ) четкие. В цитоплазме клеток видны мелкие скопления рибосом (Р), липидные капельки (ЛК), лизосомы (Л) и митохондрии (М) с явными деструктивными изменениями: разрушенные кристы (КР), от которых остались отдельные обрывки, полное просветление матрикса, резко измененная форма, разрывы оболочки.

В толще межальвеолярной перегородки в волокнистых образованиях по-прежнему обнаруживается характерная для ретикулиновых и коллагеновых волокон поперечная исчерченность, без заметного разволокнения пучков этих волокон.

Через 2 часа

В данном периоде острой гипоксии световая микроскопия выявляет резкие расстройства гемодинамики. Капилляры расширены, заполнены кровью. В многочисленных участках легкого видны внутриальвеолярные кровоизлияния, с многочисленным скоплением в просвете альвеол эритроцитов и клеток эпителия (рис. 105). Явления легочного отека резко выражены: периваскулярные и перибронхиальные соединительнотканые пространства разрыхлены, отечны, в большинстве альвеол виден транссудат с примесью различных клеток (рис. 106). В субплевральных участках массивные очаги внутриальвеолярных кровоизлияний чередуются с участками эмфиземы, которая имеет место, но менее выраженное и в центральных участках (рис. 107). Многие бронхи расширены, их слизис -

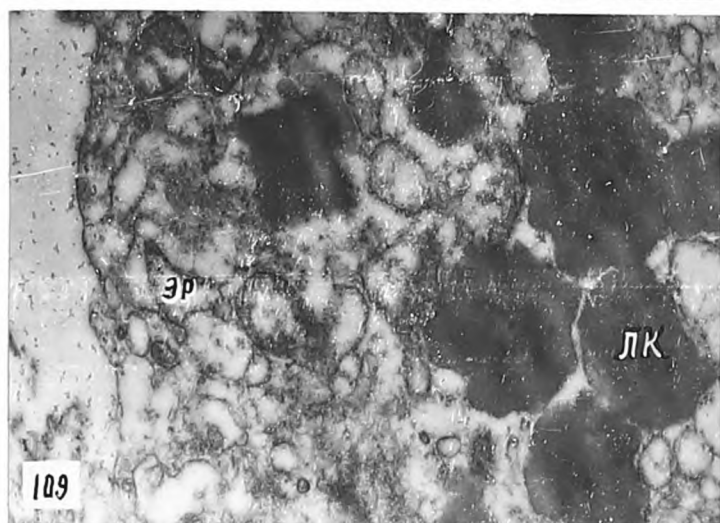
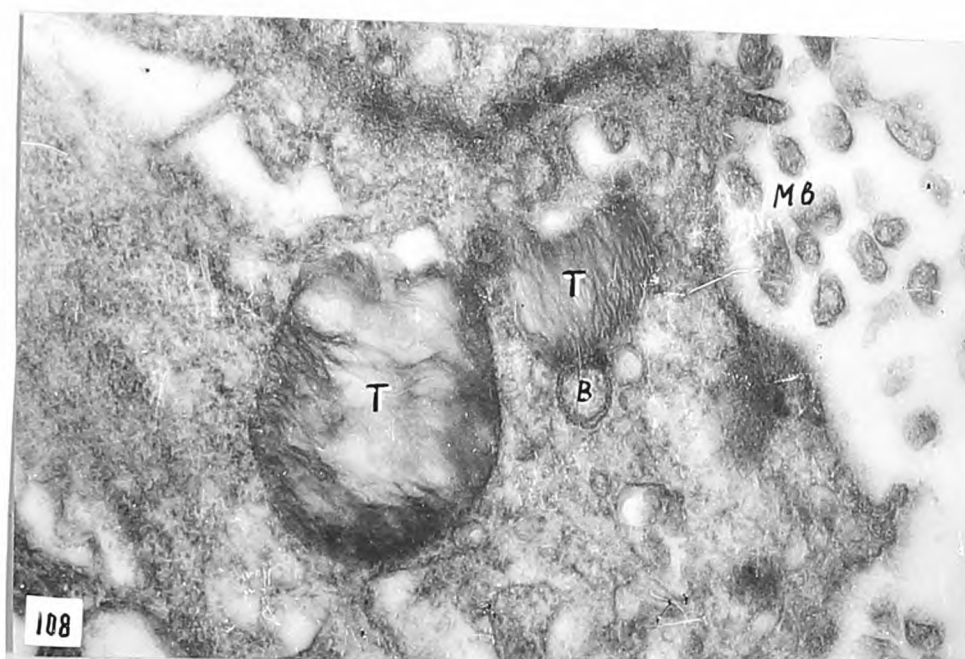
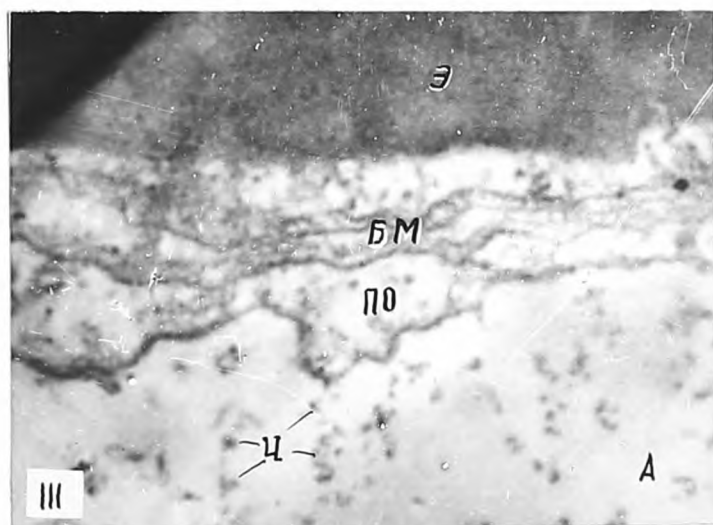
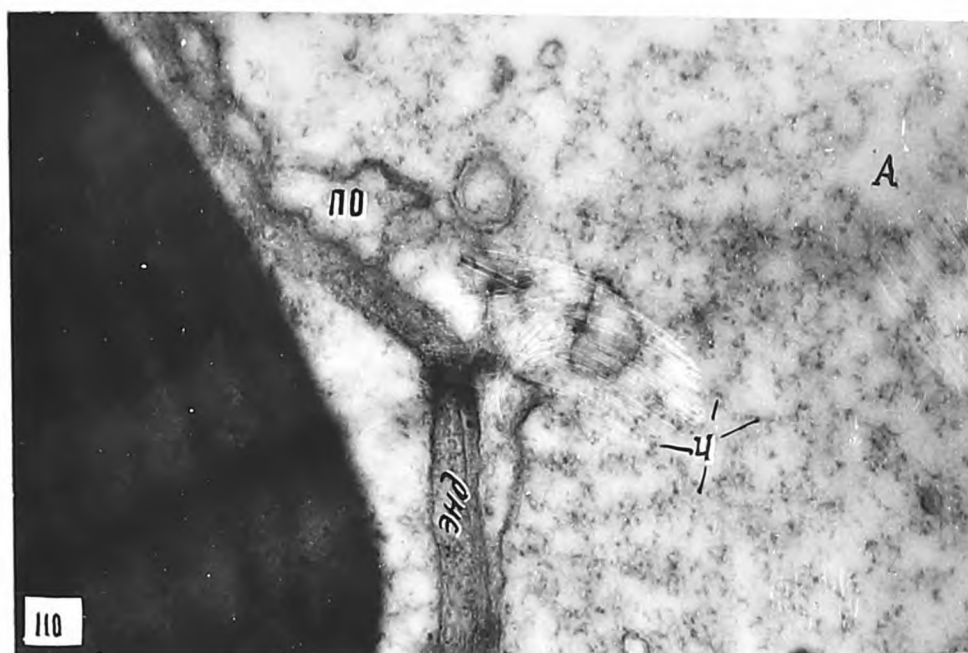


Рис. 108. Структура телец (Т) типа войлокообразных в альвеолярной клетке (2 часа острой гипоксии);
х 15000.

В-вакуоль с двойной оболочкой; Мв- микроворсинки в поперечном сечении.

Рис. 109. Резкое расширение канальцев эндоплазматического ретикулума (Эр) и скопление липидных капелек (ЛК) в участке альвеолярной клетки в легком крысенка (2 часа острой гипоксии); х 12000.



Изменения в воздушно-кровеносном барьере легких крысенка через 2 часа острой гипоксии.

Рис. II. Резкий отек цитоплазмы пластинчатого отростка (ПО) и уплотнение эндотелия (ЭНД); $\times 15000$.

Рис. III. Изменение базальных мембран (БМ); $\times 25000$
(описание в тексте).

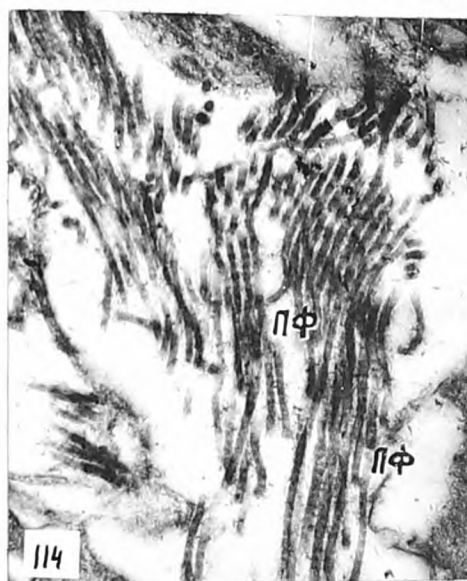
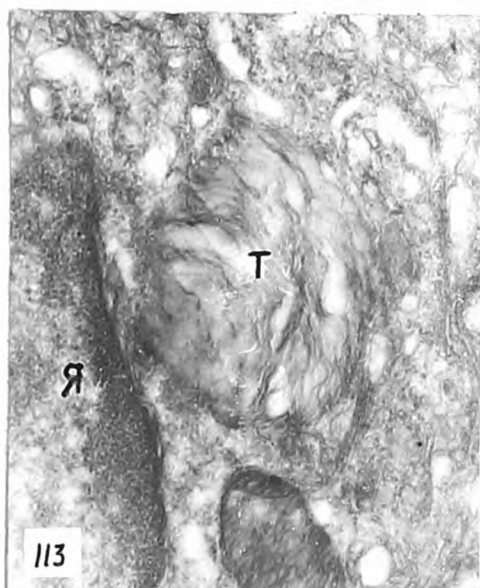
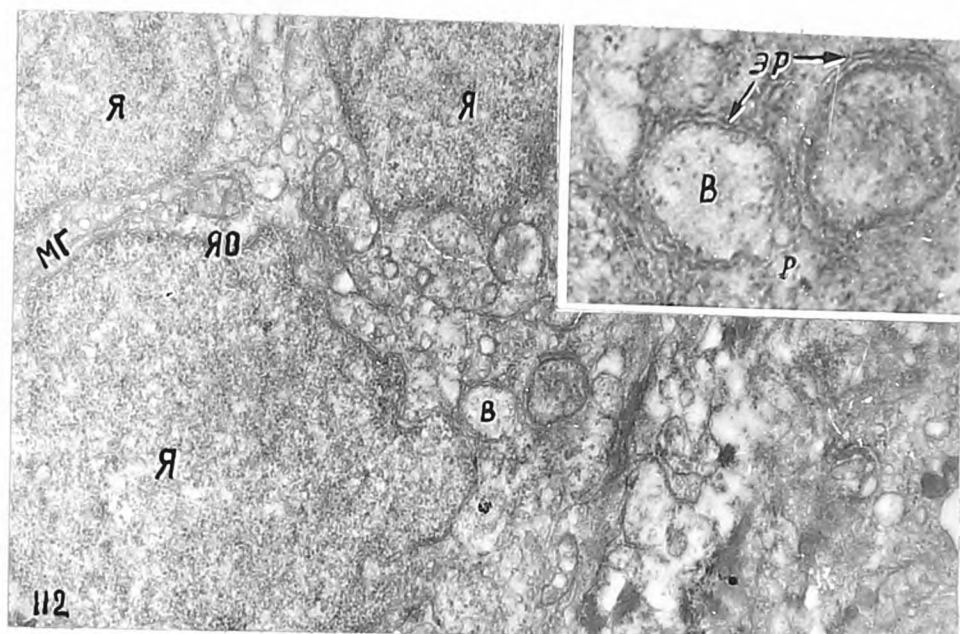
гая сглажена. В аргирофильном каркасе легкого видны довольно многочисленные участки с огрубением, штрихообразной фрагментацией волокон. Утолщенные межальвеоларные перегородки содержат большое количество клеток с гиперхромными ядрами.

Электронномикроскопически по-прежнему выявляется выраженный полиморфизм изменений ультраструктурной организации многих клеток легочной ткани.

В данном периоде гипоксии отмечается появление войлокообразных телец в альвеоларных и эндотелиальных клетках. Тельца имеют матрикс умеренной плотности, в котором расположены очень тонкие извилистые волокна. Типичной для митохондрий двойной оболочки у этих структур не определяется. Иногда около телец (Т) видны вакуоли (В) с четко различимой двойной оболочкой, заполненные веществом умеренной плотности (рис. 108).

Наряду с появлением вакуолей с двойной оболочкой в клетках в данном периоде гипоксии выявляется нарастание количества липидных капелек и тенденция их к группированию в самых различных участках клетки, но в большей части в ее периферических зонах. Скопление липидных капелек (ЛК) часто видны в участках клеток, где отмечается довольно выраженная вакуолизация элементов эндоплазматического ретикулома (ЭР), однако без слияния образовавшихся вакуолей с липидными капельками (рис. 109). Липидные капельки видны также в просветах альвеол.

В воздушно-кровеносном барьере легких выявляется нарастание внутриклеточного отека альвеоларной и эндотелиальной выстилок. Однако, в целом, изменения по-прежнему неравномерны. На одних электронных микрофотографиях заметно лишь умеренное набухание



Изменения в межалвеолярной перегородке легкого крысенка через 2 часа острой гипоксии.

Рис. 112. Ядра (Я) и участки цитоплазмы трех септальных клеток; $\times 10000$. (описание в тексте)

Рис. 113. Структура специфического тельца (Т) около ядра (Я) в септальной клетке; $\times 15000$.

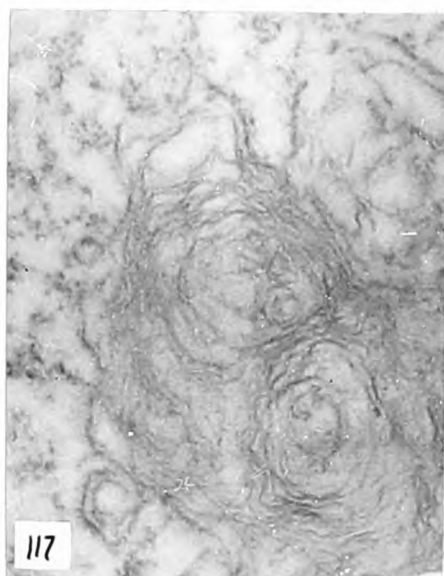
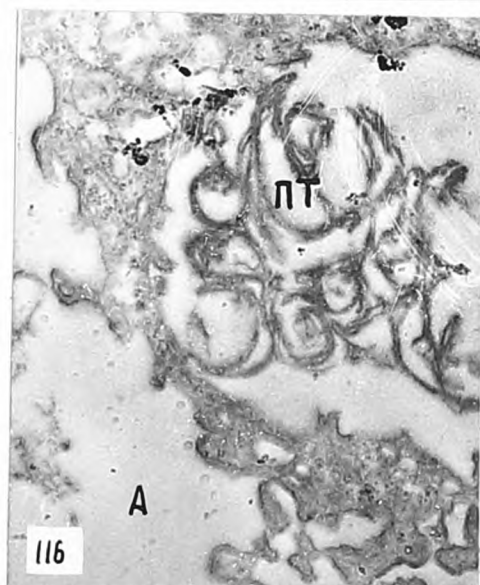
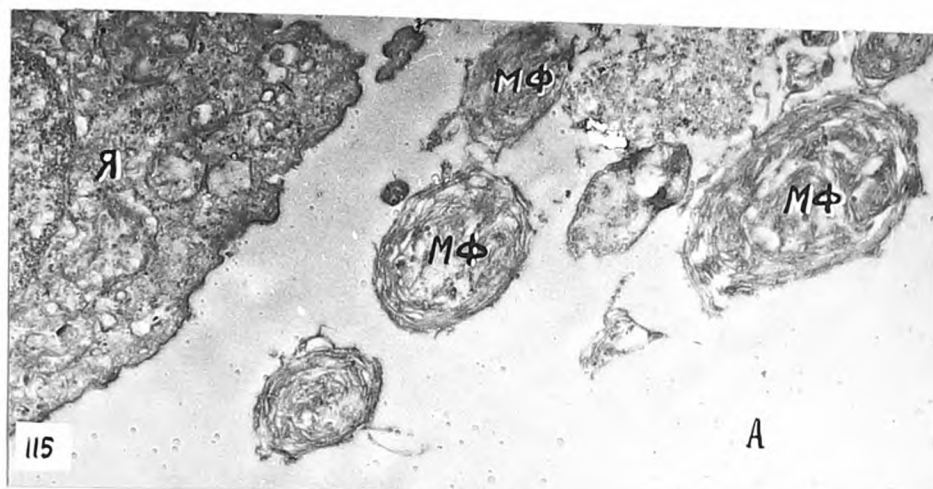
Рис. 114. Слабая поперечная исчерченность первичных фибрилл (ПФ) коллагенового волокна; $\times 15000$.

цитоплазмы эндотелия и пластинчатых отростков. На других выявляется сочетание внутриклеточного отека альвеолярной выстилки, точнее пластинчатых отростков (ПО) клеток типа I, с уплощением и уплотнением эндотелиального (ЭНД) слоя (рис. II0).

Иногда встречаются участки воздушно-кровеносного барьера, в которых видны резко измененные две базальные мембраны, разделенные различной ширины отеком межмембранозным пространством. В таких случаях базальные мембраны эндотелиальной и альвеолярной выстилок просматриваются в виде неровных извилистых тяжей. Края базальных мембран во многих местах нечеткие, с разрывами. Светлое, лишенное обычной плотности, внутреннее пространство мембран пронизывают множественные перемычки, придающие им некоторую как бы исчерченность, являющуюся, возможно, следствием повышенной проницаемости в целом всей капиллярной стенки. По всей толще барьера и в просвете альвеолы видны частицы (Ч) одной плотности и размера (рис. III).

В септальных клетках довольно часто видны ядра с почти нормальной структурой: двухконтурная, с узкой полоской перинуклеарного пространства ядерная оболочка (ЯО), равномерно распределенный по всему ядру мелкозернистый хроматин. В окружающей ядро цитоплазме разбросаны рибосомы (Р). Межклеточные границы (МГ) клеток четкие. Четкими и не расширенными выглядят некоторые каналы гладкого эндоплазматического ретикулума (ЭР), плотную окружающие (но без слияния) большие вакуоли (В), что более четко видно в рамке рисунка. Видны также множественные мелкие светлые вакуоли (рис. II2).

Однако, особенностью ультраструктуры септальных клеток в дан-



Изменения в легких крыс через 3 часа острой гипоксии.

Рис. 115. Скопление телец типа миэлиноподобных фигур (МФ) в просвете альвеолы; $\times 10000$.

Рис. 116. Распад пластинчатых телец (ПТ) в альвеолярной клетке; $\times 10000$.

Рис. 117. Образование типа миэлиноподобной фигуры в просвете альвеолы; $\times 25000$.

ном периоде является появление в их цитоплазме довольно больших вакуолей, часто с двойной оболочкой и телец типа войлоко- и пластинчатообразных.

Многие тельца (Т) характеризуются беспорядочным расположением волокон. Оболочка у телец не видна, внутреннее пространство различной плотности (рис. II3).

В волокнистых структурах межалвеолярной перегородки, в частности, в пучках коллагеновых волокон, выявляется нерезкое разволокнение составляющих его фибрилл, однако поперечная исчерченность, хотя и не совсем четкая, еще сохраняется (рис. II4).

Через 3 часа

Описанные выше изменения усилились. В гистологических препаратах наблюдалось резкое утолщение межалвеолярных перегородок за счет инфильтративно-пролиферативных процессов в них. Множественные разрывы межалвеолярных перегородок чередуются с обширными очагами кровоизлияния в альвеолы, с резким отеком периваскулярных пространств. Изменения ядер альвеолярных и других клеток весьма полиморфны - от ядер нормального вида, до тусклых, слабо окрашенных ядер. Между этими крайностями видны ядра с различной степенью деструкции и базофильности, однако, преобладают гиперхромные ядра.

Электронномикроскопически дополнительные и наиболее характерные изменения проявились в количественном нарастании в просветах альвеол и капилляров телец типа войлоко- и пластинчатообразных, а также типа миэлиновых фигур (рис. II5). Количество, размер, структура подобных телец весьма варьируют в просветах различных альвеол. Тельца могут находиться как в центре альвеолы, так и непосредственно у плазматических мембран клеток, в местах их инвазии или разрыва, а также в цитоплазме альвеолярных клеток.

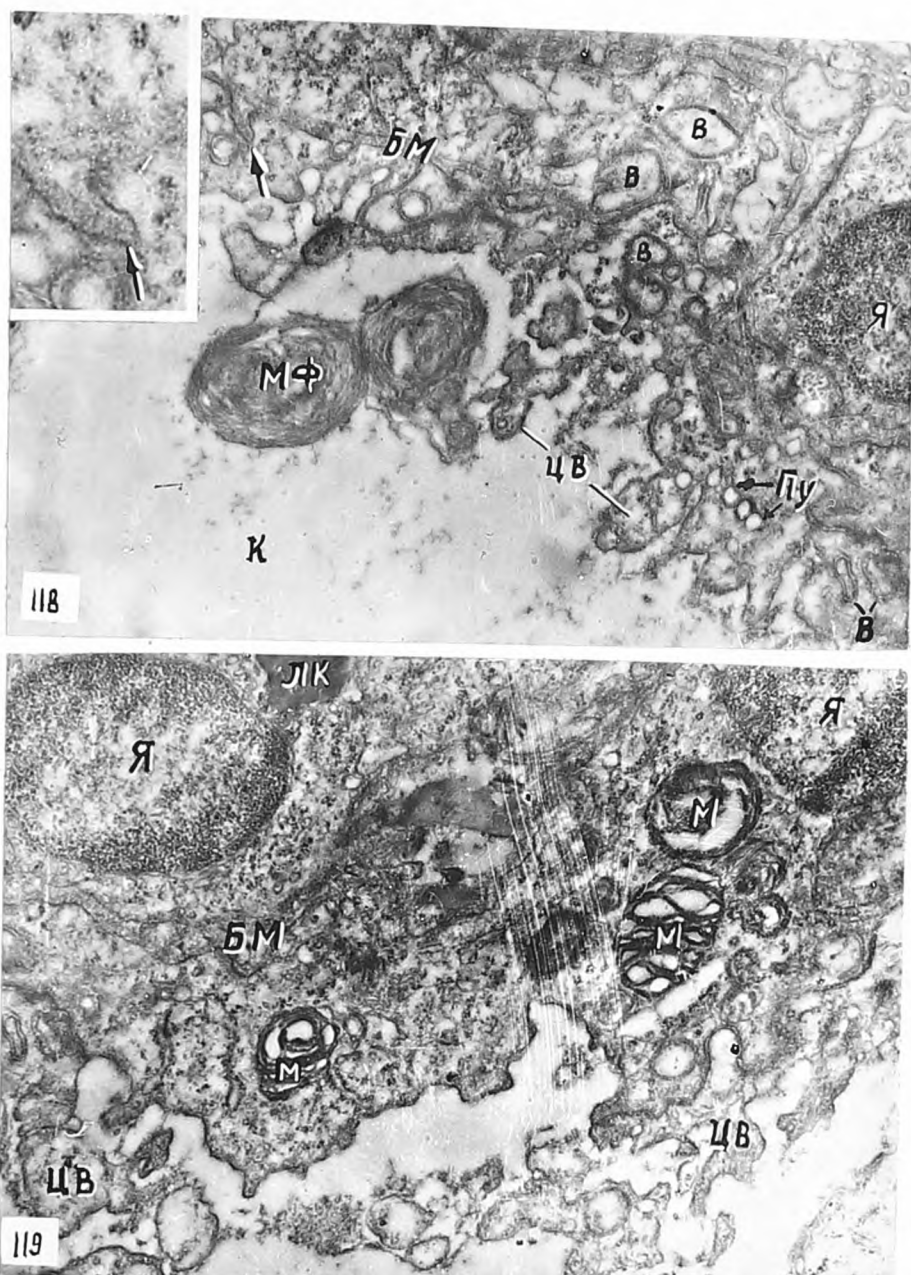


Рис. 118-119. Изменения в участке эндотелия капилляра в легком крысенка через 3 часа острой гипоксии, х 10000. (описание в тексте)

Иногда в апикальных участках альвеолярных клеток, обращенных в просвет альвеол, видны большие светлые вакуоли, содержащие, вероятно, остатки разрушенных пластинчатых телец (рис. II6). В просветах альвеол, заполненных отечной жидкостью с большим содержанием плазматического белка, выявляются миэлиноподобные фигуры, имеющие тонко-нитчатую структуру (рис. II7).

Другой особенностью, выявляемой на электронных микрофотографиях в этом периоде гипоксии, является резкое утолщение эндотелия капилляров. При этом край эндотелия приобретает причудливые очертания за счет многочисленных цитоплазматических выростов (ЦВ) и инвагинаций цитоплазмы, но с сохранением в большинстве случаев целостности плазматической мембраны эндотелиальных клеток (рис. II8, II9).

В цитоплазме эндотелиальных клеток, чаще ближе к краю клетки или непосредственно под плазматической мембраной, видны митохондрии с поперечными или как бы концентрически закругленными плотными однослойными кристами. Характерно, что матрикс подобных митохондрий (М) совершенно просветлен, тогда как окружающая их цитоплазма умеренной плотности, с многочисленными частицами типа рибосом, многие из которых резко осмиофильны (рис. II9).

В ядрах эндотелиальных клеток часто видна нормальная оболочка, но уже по всему ядру заметны участки просветления нуклеоплазмы, с образованием мелких конгломератов хроматина (рис. II9, я).

Очень характерны изменения базальной мембраны капилляров. Она выглядит в виде неровной извилистой линии с многочисленными пальцеобразными и мешковидными ответвлениями в сторону просве-

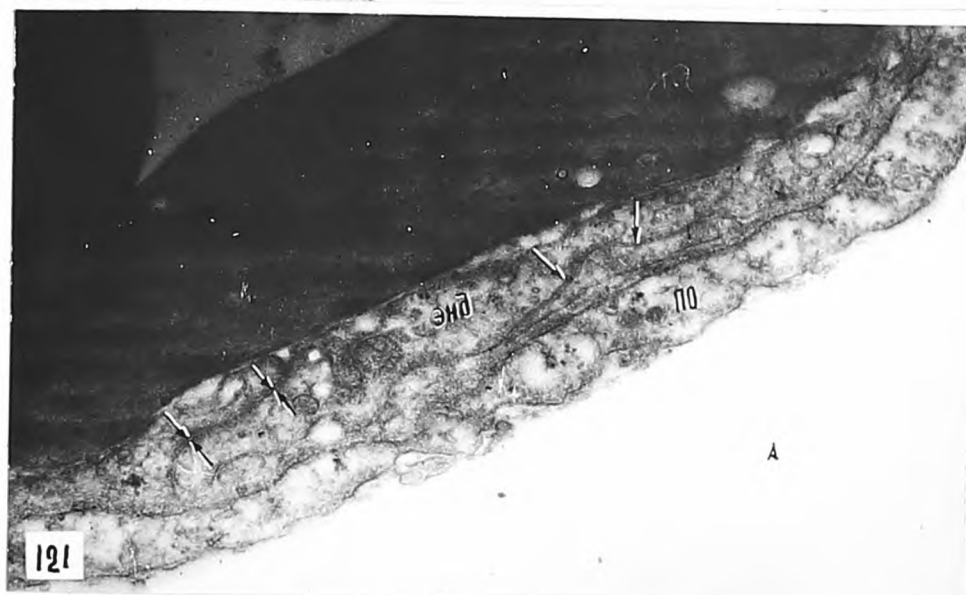
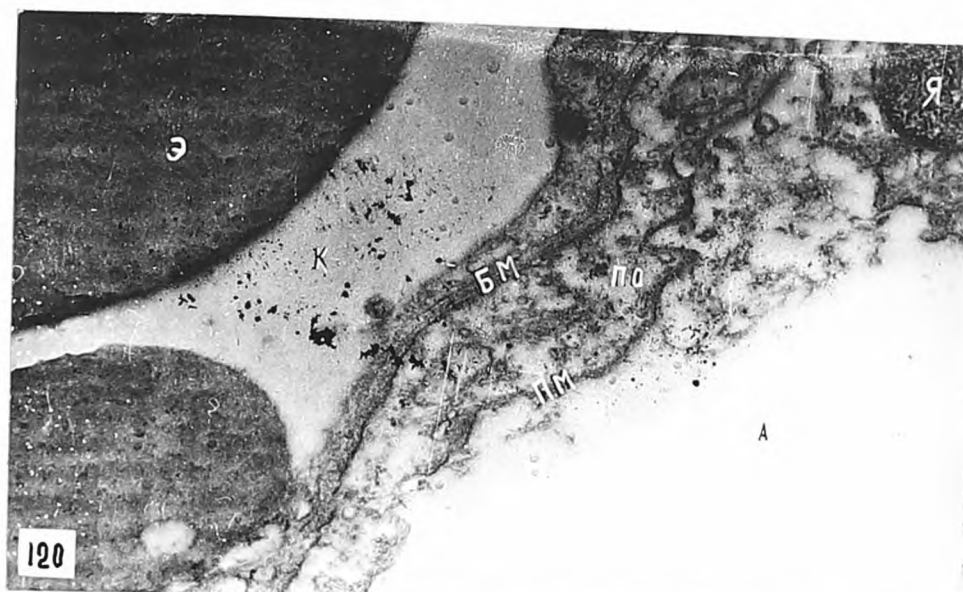
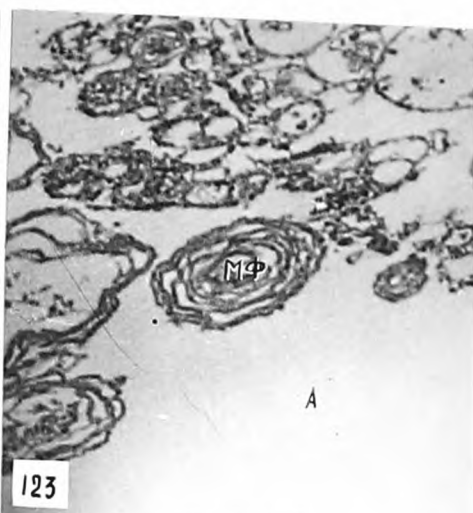
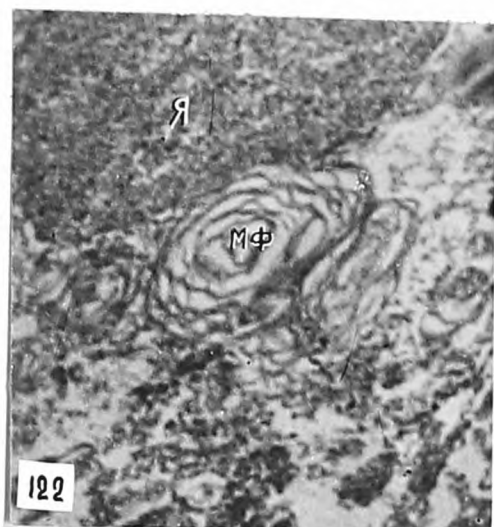


Рис. 120 - 121. Изменения в смежных участках воздушно-крово-
носного барьера легких крысенка через 3 часа острой гипок-
сии; $\times 10000$. (описание в тексте)



Изменения в легких крысят при сочетанном воздействии гипоксии и посмертного аутолиза.

Рис. 122 - 123. Появление в клетках и в просвете альвеол включений типа миэлиноподобных фигур (МФ); $\times 10000$.

Рис. 124. Пластинчато преобразованные митохондрии (M_1) и запустевшие митохондрии ($M_2 - M_3$), а также большое количество телец (Т) типа миэлино- и войлокообразных в альвеолярной клетке; $\times 12000$.

а капилляра. В непосредственной близости от базальных мембран, или на значительном удалении от них, видны довольно многочисленные светлые вакуоли (В) с очень четкой двойной оболочкой и мелкие пузырьки (ПУ) типа пиноцитозных (рис. 118). В тех местах, где базальные мембраны утолщены и имеют пониженную плотность, в их естестве просматриваются частицы, близкие по размерам и плотности частицам, находящимся по обе стороны от базальной мембраны. Видимых сквозных отверстий или разрывов в базальных мембранах мы не отметили.

В воздушно-кровеносном барьере изменения по-прежнему остаются олиморфными. В одних случаях в капиллярной петле, выступающей в просвет альвеолы, виден тонкий слой эндотелия. Цитоплазма пластинчатых отростков (ПО) альвеолярной клетки, наоборот, заметно утолщена, с неровными контурами плазматической мембраны (ПМ), но без видимых разрывов последней на всем протяжении (рис. 120). В правом верхнем углу рисунка видна часть альвеолярной клетки типа I. Эритроциты, находящиеся в просвете капилляра, обычной плотности. Некоторая исчерченность их обусловлена ультрамикротомированием.

Рис. 121 является продолжением предыдущего рисунка. Стрелками отмечены межклеточные границы в местах соединения эндотелиальных клеток. Характерно, что в местах соединения клеток видны тонкие, неповрежденные, обычной плотности плазматические мембраны, между которыми просматривается узкая, более светлая полоска межклеточного пространства.

В септальных клетках по сравнению с 2-х часовым периодом гипоксии резких дополнительных нарушений ультраструктур не выявляется, однако, обнаруживается появление митохондрий с редкими,

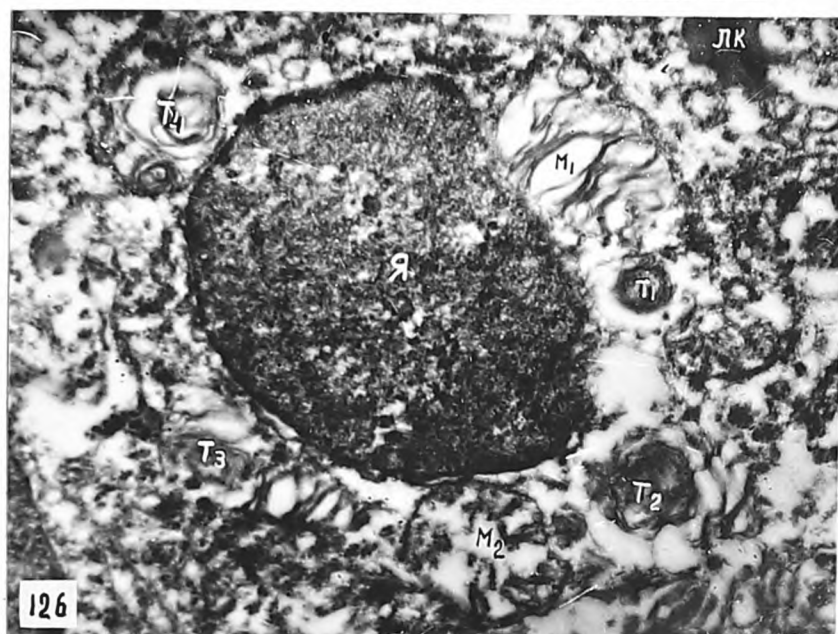
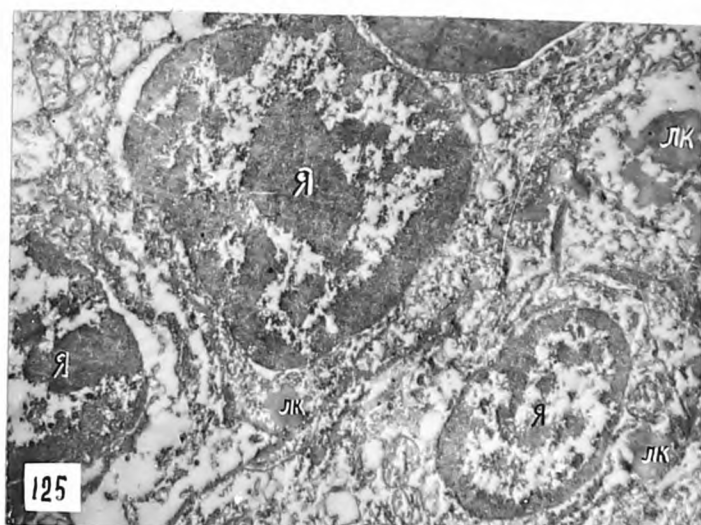


Рис. 125. Резкое просветление нуклеоплазмы, компактование и уплотнение хроматина в ядрах септальных клеток при сочетанном воздействии на легкие 1 часа гипоксии и 12 часов посмертного аутолиза; $\times 4000$.

Рис. 126. Изменения в цитоплазме септальной клетки при тех же условиях; $\times 12000$ (описание в тексте).

гощенными и искривленными пластинчатыми кристами, и вакуолей с
этикими двойными оболочками.

В межалвеолярной перегородке обнаруживаются ретикулиновые и
плазменные волокна не всегда с четкой поперечной исчерченностью
из-за потери электронной плотности волокон или их фрагментации
и отмечено.

Таким образом, при острой гипоксии продолжительностью в 3 часа
вызванной путем помещения крысят в герметичное пространство, суб-
микроскопические изменения в легких развивались постепенно и носи-
ли полиморфный характер.

Наиболее характерным проявлением гипоксии в первые 30 минут
было появление в различных клетках, особенно альвеолярных, ми-
тохондрией с пластинчатым расположением крист. Через 1 час от нача-
ла опыта в клетках альвеолярной и эндотелиальной выстилки выявля-
ется картина внутриклеточного отека.

Через 2 часа в альвеолярных и эндотелиальных клетках, а также
в просвете альвеол определяется нарастание количества телец типа
изидиоподобных фигур. Через 3 часа гипоксического состояния от-
мечается резкое нарастание ультраструктурной дезорганизации мито-
хондрией. Нарастание отечных явлений проявляется в утолщении эндо-
телия капилляров, в изменении базальной мембраны, появлении в
клетках вакуолей с двойными оболочками и мелких пузырьков типа
иноцитозных.

Учитывая, что изменения при острой гипоксии, вызванные путем
помещения крысят в замкнутое пространство, происходят при быстро
возрастающей концентрации углекислоты, нами, с целью выявления
возможного воздействия углекислоты на ультраструктуру легких, про-

ведены опыты с развитием гипоксии в барокамере.

Анализ полученных данных показал, что после пребывания крысят в барокамере на "высоте" 10000 м в течение 30 минут, 1 часа и 2 часов, характер и протяженность субмикроскопических изменений в легких фактически идентичны изменениям при острой гипоксии с гиперкапнией в замкнутом объеме. При этом также выявляется выраженный полиморфизм ультраструктурных изменений. Мы не отметили каких-либо дополнительных по характеру изменений в ультраструктурной организации легких и после 5 часов пребывания крысят в барокамере на "высоте" 13000 м. К этому времени большинство крысят погибло, а оставшиеся в живых находились, по-видимому, в агональном состоянии.

Динамика посмертных изменений в легких крысят,
предварительно перенесших острую гипоксию
различной продолжительности

В данной серии опытов на изменения в легких крысят, вызванных острой гипоксией, "наслаивались" последующие посмертные изменения. Поскольку динамика посмертных изменений и изменений при острой гипоксии в легких крысят была описана в предыдущих разделах главы, здесь мы ограничиваемся описанием полученных результатов.

При сочетании краткосрочной гипоксии (5-15 минут) с последующим развитием посмертных изменений длительностью в 1-3 часа в легких выявляются лишь структурные нарушения, свойственные 3-х часовому периоду посмертных изменений.

При сочетании гипоксии продолжительностью от 30 минут до 1 часа с посмертными изменениями на протяжении 3-6 часов в легких преобладают нарушения ультраструктурной организации клеток, свой-

твенные гипоксии. Однако, при этом отмечается несколько большая степень агрегирования ядерного хроматина, просветление нуклеоплазмы и матрикса митохондрий, а также количественное нарастание в клетках и в просвете альвеол телец типа миэлиноподобных фигур (рис. 122, 123). Последние без предварительной гипоксии при по-
мертных изменениях длительностью до 6 часов в просвете альвеол не отмечались.

I часовая гипоксия, сочетанная с посмертными изменениями длительностью в 12 часов, приводит к резким изменениям ультраструктур клеток. Характер этих изменений уже не позволяет с уверенностью сказать, являются ли данные изменения следствием гипоксии или следствием развившихся процессов аутолиза.

Так, в клетках альвеолярной и эндотелиальной выстилки выявляются различной степени отек ядра, перинуклеарного пространства и цитоплазмы клеток. Одни ядра с уплотненным хроматином, с небольшими очагами просветления нуклеоплазмы. У других ядерная оболочка нечеткая. Ее наружный, собранный в складки листок, отходит от внутреннего листка, в результате чего образуется различной ширины щелевидное перинуклеарное пространство (ПП.) Окружающая ядра цитоплазма лишена какой-либо плотности, пустая. Такими же пустыми выглядят резко набухшие митохондрии (M_2 , M_3), в которых видны остатки разрушенных крист и плотные осмиофильные комочки (рис. 124). На этом рисунке области двойной стрелки оболочка митохондрий сливается с краем ядра, где ядерная оболочка не видна. Для данной клетки характерно наличие большого количества круглых телец (Т), напоминающих войлокообразные и пластинчатые тела в альвеолярных клетках типа 2. Видна также митохондрия (M_I) неправильной

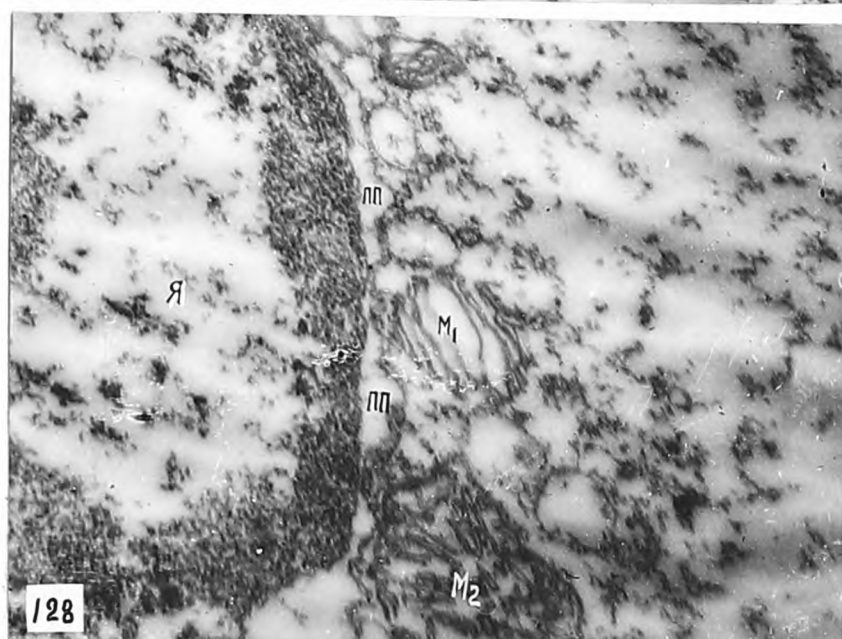
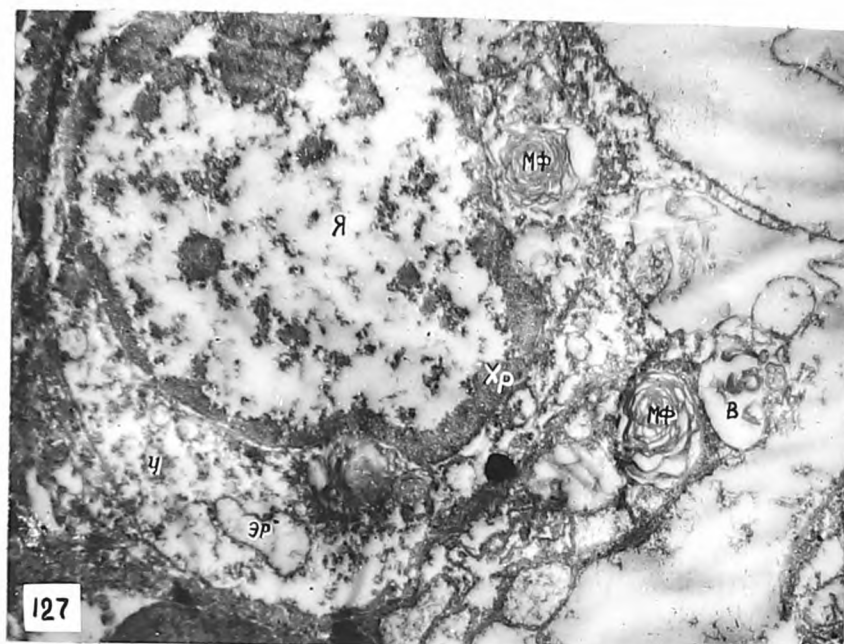


Рис. 127 и 128 - Ультраструктурная дезорганизация клеток, вызванная сочетанным воздействием на легкие крысенка 1 часа гипоксии и 24 часов посмертного аутолиза. Увеличение рис. соответственно: $\times 4000$ и $\times 24000$.

(описание в тексте).

формы с пластинчатым расположением крист. Плазматическая мембрана клетки (ПМ) на большом протяжении разрушена. Непосредственно под ней видны вакуоли (В).

Аналогичные изменения видны в септальных клетках. Так, на рис. 125 представлен участок межалвеолярной перегородки, в котором видны ядра септальных клеток. После повреждающих воздействий I часовой острой гипоксии и последующих посмертных изменений в течение 12 часов, в этих ядрах появились "пустые" участки за счет скопления и уплотнения зернышек хроматина (ХР) под ядерной оболочкой. Одно ядро (Я1) находится в стадии, близкой к распаду. Вокруг ядер видна также просветленная, вакуолизированная цитоплазма, в которой разбросаны липидные капельки (ЛК).

В других септальных клетках видны ядра с незначительной степенью просветления нуклеоплазмы и комкования хроматина. Однако наружный листок ядерной оболочки чаще собран в складки. Иногда встречаются ядра, у которых на некотором протяжении оболочка вообще отсутствует, и с хроматиновой субстанцией ядра соприкасаются искривленные кристы резко измененных митохондрий (M_1). Другие митохондрии (M_2) сильно набухшие, неправильной формы, с совершенно пустым матриксом, на фоне которого видны распадающиеся кристы. Вокруг ядра разбросаны тельца (T_1, T_2, T_3, T_4), находящиеся в различной стадии разволокнения. Цитоплазма клетки просветлена, лишена рибосом и элементов эндоплазматического ретикулума (рис. 126).

При сочетании гипоксии продолжительностью в I час с 24 часами последующих посмертных изменений в самых различных клетках легочной ткани появились признаки развившегося процесса аутолиза. Однако, степень дезорганизации ультраструктуры более выражена, чем

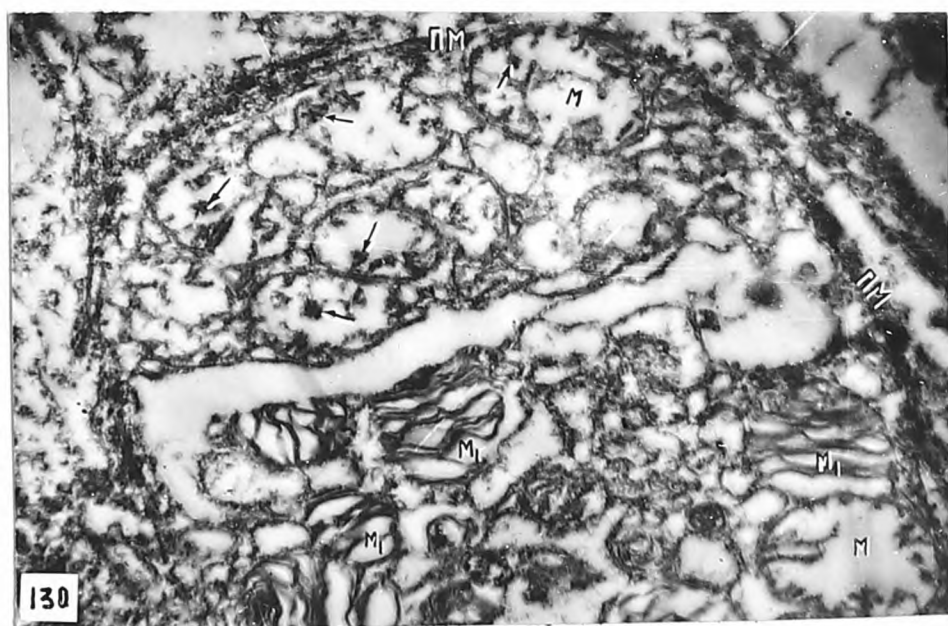
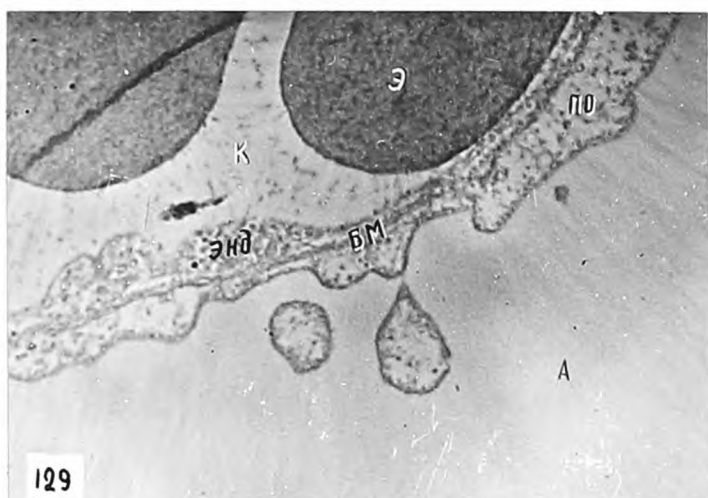


Рис. 129. Гипоксический характер изменений в участке
воздушно-кровеносного барьера легких крысенка;
x 10000.
(описание в тексте),

Рис. 130. Изменения митохондрий в альвеолярной клетке
по типу набухания (М) и пластинчатого преобразования
(М_I); x 12000.
(описание в тексте).

при посмертных изменениях длительностью в 24 часа, но без предварительно перенесенной гипоксии. Нарушения ультраструктурной организации клеток по-прежнему полиморфны, особенно в септальных клетках. Так, на рис. 127 в светлом ядре септальной клетки видны остатки уплотнившегося под оболочкой хроматина. Само ядро с неровными контурами. Окружающая ядро цитоплазма с просветленным матриксом содержит скопления плотных частичек (Ч) в виде комочков. Видны в различной степени расширенные вакуолеподобные элементы эндоплазматического ретикулума (Эр). Около ядра и на периферии клетки расположены миэлиноподобные фигуры (МФ). Вакуоль (В), заполненная рыхлым содержимым, наполовину выступает в межклеточное пространство.

В соседней клетке (рис. 128) изменения ультраструктур более выражены. Ядро клетки находится, по-видимому, в стадии близкой к лизису. Складчатый наружный листок ядерной оболочки еще сохранный. Между этим листком и внутренним листком, слившимся с уплотнившимся хроматином, образовались обширные расширения перинуклеарного пространства (ПП). В области стрелок вакуоли соприкасаются с наружным листком ядерной оболочки. В светлой цитоплазме видны немногочисленные, как бы вдвойне сложенные, кристы пластинчатой образной митохондрии (M_1), а также беспорядочное переплетение крист в митохондрии (M_2) без четкой наружной оболочки. По всей цитоплазме видны бесформенные частицы, появившиеся вследствие распада внутриклеточных структур. Частицы сходны с зернами ядерного хроматина.

В легких крысят перенесших 2-х часовую гипоксию и вскрытых через 2 часа после декапитации посмертные изменения были мало заметными. Они даже не стерли морфологические следы такого тонкого

нкционального проявления, как момент отшнурования части отечной топлазмы альвеолярной клетки, обусловленный гипоксией. Так, на ис. 129 виден участок воздушно-кровеночного барьера с тонким слоем дотелия (ЭНД) и набухшим слоем цитоплазмы пластинчатого отростка (ПО). В области стрелки видна отшнуровавшаяся вакуолеподобная капля" цитоплазмы. Эта капля окружена оболочкой такой же толщины и плотности, что и у плазматической мембраны пластинчатого отростка. Другая капля полностью отшнуровалась и уже успела принять шарообразную форму. Как цитоплазма пластинчатого отростка, так вакуолеподобные капли заполнены содержимым одинаковой электронной плотности и содержат мелкие частички различной плотности. Эти же частички видны и в просвете капилляра и в цитоплазме обеих выстилок капиллярной стенки.

Другая картина наблюдается, когда субмикроскопические изменения, вызванные 2-х часовой гипоксией, сочетаются с посмертными изменениями, развивавшихся на протяжении 12 часов. В этом случае ультраструктурные нарушения, вызванные кислородным голоданием, зашувываются процессами аутолиза. При этом обнаруживается пестрая картина изображения, весьма затрудняющая интерпретацию полученных результатов.

На рис.130 представлена часть альвеолярной клетки типа II буквально нафаршированная разрушенными митохондриями. Характерно, что митохондрии сгруппировались в пределах одного участка. Изменения в них развивались, по-видимому, в двух направлениях.

Под разрушенной плазматической мембраной (ПМ) видны многочисленные, разного размера, светлые вакуоли. Однако у некоторых из них вакуолей видна двойная наружная оболочка, под которой опреде-

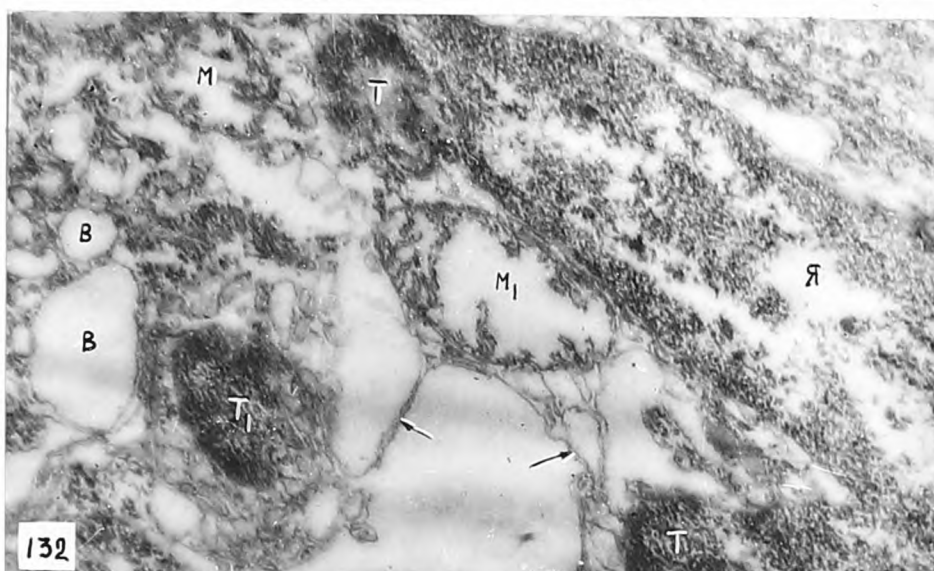
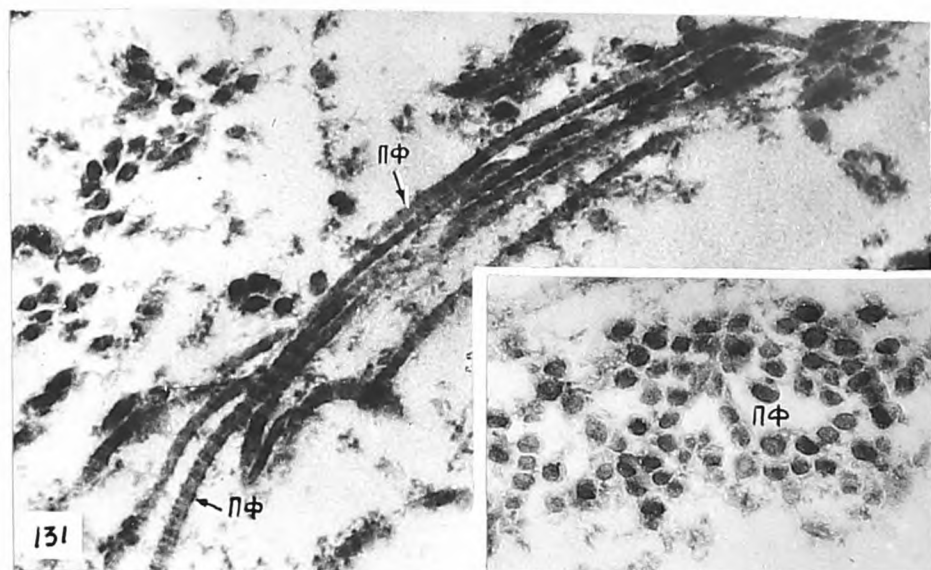


Рис. 131. Ультраструктура первичных фибрилл коллагена
х 25000.
(описание в тексте).

Рис. 132. Резко деструктивный характер изменений в межалвеолярной перегородке легкого крысенка при сочетании гипоксии продолжительностью в 3 часа с по-
смертным аутолизом в течение 12 часов; х 24000.
(описание в тексте).

ются фрагменты двойных крист, а также плотные осмиофильные комочки (обозначено стрелками). Это обстоятельство говорит за то, что изменение данной группы митохондрий шло по пути резкого набухания: увеличение размеров сопровождалось деструкцией внутренней структуры, что привело к полному запустению митохондрий, но с сохранением внешней оболочки.

В нижней части рисунка сгруппированы образования (M_I) с длинными и параллельно расположенными, иногда двойными линиями, без сплошной наружной оболочки. Эти образования мы рассматриваем как митохондрии, изменение которых шло по пути пластинчатого образования.

В межалвеолярной перегородке соединительнотканые волокна претерпели каких-либо изменений в своей структуре. У ретикулиновых волокон, состоящих из нескольких первичных фибрилл коллагена, четко просматривается поперечная исчерченность (обозначено стрелками). В рамке рисунка - поперечное сечение ретикулинового волокна, состоящего из нескольких десятков первичных фибрилл коллагена (рис. 131). Однако, необходимо подчеркнуть, что первичные фибриллы как в продольном, так и в поперечном сечении как бы выделены на светлом фоне межклеточного пространства. Между фибриллами также не выявляется какой-либо субстанции, хотя на поперечном срезе около некоторых фибрилл заметно вещество умеренной плотности. У фибрилл в поперечном сечении заметна неоднородность в их диаметре в электронной плотности.

При сочетании гипоксии продолжительностью в 3 часа (когда крысы почти все погибают) с посмертными изменениями в течение 2-х часов на электронных микрофотографиях преобладают изменения,

обусловленные гипоксией. При этом выявляется большее просветление нуклеоплазмы, матрикса митохондрий и цитоплазмы клеток, свойственных посмертным изменениям, но более выраженных в данных опытах с гипоксией.

При 3-х часовой гипоксии, сочетанной с 12-24 часами посмертных изменений, дезорганизация ультраструктур клеток настолько выражена, что практически не представляется возможным не только дифференцировать прижизненные изменения от посмертных, но и в целом интерпретировать полученное изображение. Подобные изменения представлены на рис. 132 в межальвеолярной перегородке. На светлом фоне видно резко измененное ядро (Я), лишенное оболочки. К ядру примыкает (но без слияния) митохондрия (M_I) с обрывками крист, сохранившихся под нечетко очерченной оболочкой. От оболочки отходят тонкие нити (показано стрелками), которые соединяются с тремя тельцами, одно из которых (T_I) напоминает клубок нитей. В левой части рисунка видны светлые вакуоли различной величины и формы.

Сочетание гипоксии продолжительностью в 3 часа с посмертными изменениями в течение 48 часов и более вызывает нарушения ультраструктуры легких, не поддающихся какой-либо интерпретации с точки зрения субмикроскопической организации ткани легкого.

Таким образом, после острой гипоксии, вызванной путем помещения крысят в замкнутое пространство и вскрытых после декапитации в разные сроки времени, степень и характер ультраструктурных повреждений позволяют в определенных пределах времени после смерти дифференцировать прижизненные гипоксические ультраструктурные изменения от посмертных. Возможность подобной дифференцировки обуславливается длительностью как гипоксии, так и времени вскрытия после

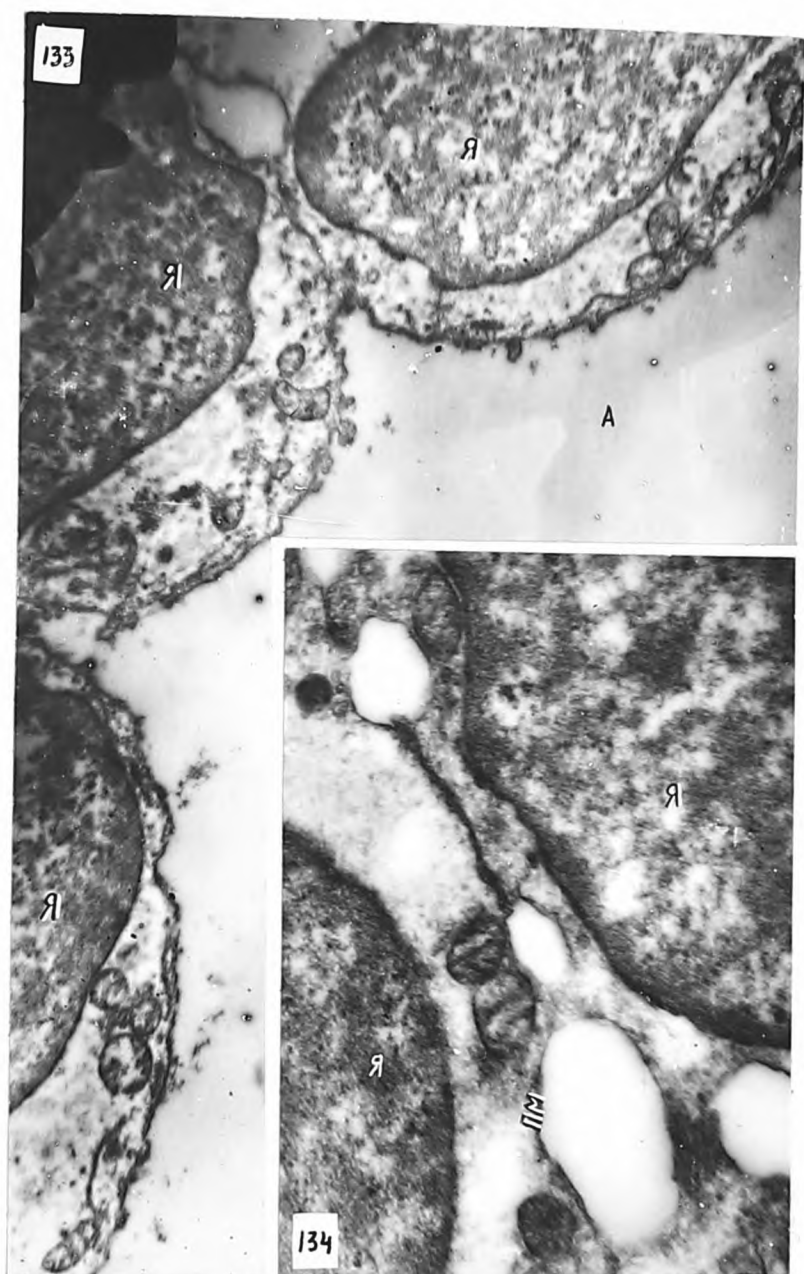


Рис. 133 и 134 - Ультраструктура легких 20-22 недельных плодов человека. Увеличения рис. соответственно: $\times 11000$ и $\times 4000$.

Видны расширения межклеточных пространств (МП), без повреждения плазматических мембран соприкасающихся клеток.

смерти. Увеличение времени посмертных изменений проявляется в более быстром и нарастающем просветлении матрикса митохондрий и цитоплазмы клеток, в уменьшении количества рибосом, а затем в резком нарастании дополнительных структурных повреждений, не позволяющих дифференцировать гипоксические изменения.

Выводы

При электронномикроскопическом исследовании нормальных легких крысят первых суток жизни установлено, что субмикроскопическое строение клеток альвеолярной и эндотелиальной выстилок, воздушно-кровеносного барьера, а также септальных клеток в своей основе соответствует ультраструктуре легких взрослых крыс, описанной многими авторами (*Low, 1952; Schulz, 1959; Reidbord, Spitz, 1966* и др.).

При изучении динамики спонтанных посмертных изменений в легких крысят и в легких плодов человека обнаружено, что изменение ультраструктурной организации различных клеток легочной ткани происходит постепенно. При этом выявлен весьма выраженный полиморфизм структурных нарушений.

Электронномикроскопически в легких крысят уже через 15 минут после смерти обнаруживается начинающееся просветление нуклеоплазмы и агрегирование хроматина в ядрах различных клеток. Просветление нуклеоплазмы в течение первого часа после смерти заметно нарастает, тогда как в ультраструктуре других органелл клеток видимых изменений за это время еще не обнаружено. И лишь спустя 1-3 часа после смерти выявляются изменения в ультраструктуре митохондрий, включениях типа пластинчатых телец и других органелл. Эти изменения выражаются в просветлении матрикса, искривлений крист и в нарушении формы митохондрий, в вакуолизации

агранулярных форм эндоплазматического ретикулума, в уменьшении количества рибосом, в заметном снижении плотности матрикса цитоплазмы всех клеток.

С увеличением времени посмертных изменений (свыше 6 часов) выявляется деструктивный характер повреждений ультраструктур клеток, однако ядерные оболочки, базальные мембраны и фибриллярные структуры межалвеолярной перегородки длительное время сохраняют свою ультраструктурную организацию.

При изучении легких крысят, которые после декапитации находились 72 часа в холодильнике, обнаружено, что в течение указанного срока посмертные изменения продолжали развиваться. Они отличались выраженным полиморфизмом структурных нарушений. Характерным для них является полная потеря электронной плотности нуклеоплазмы, матрикса митохондрий и матрикса цитоплазмы всех клеток.

При внутриутробной острой гипоксии, вызванной наложением лигатуры на пуповину плодов, первые изменения ультраструктур клеток обнаружены через 15 минут после перевязки пуповины.

В периферических зонах альвеолярных и эндотелиальных клеток они проявились в скоплении митохондрий и других органелл. Через 25-35 минут от момента лигирования пуповины отчетливо выявляется снижение плотности матрикса митохондрий и матрикса цитоплазмы клеток. В дальнейшем обнаруживается деструктивный характер изменений митохондрий, пластинчатых и войлокообразных телец, резкая вакуолизация эндоплазматического ретикулума, исчезновение лизосом и рибосом и нарастание количества липидных капелек.

Через 15 минут острой гипоксии, созданной путем помещения крысят в замкнутое пространство, в альвеолярных и других клетках также обнаружено появление, а затем количественное нарастание

митохондрий, отличающихся друг от друга характером повреждений. Одни из них претерпевают изменения по типу набухания: увеличение размеров, просветление матрикса, дезорганизация крист, распад наружных мембран; другие в форме "пластинчатого преобразования" (Schulz, 1959), когда митохондрии приобретают вид структур, состоящих из беспорядочно расположенных осмиофильных пластинок. Эти изменения митохондрий протекают на фоне нарастающей вакуолизации эндоплазматического ретикулума, появления и развития внутриклеточного отека, который наиболее выражен в области воздушно-кровеносного барьера и в межалвеолярной перегородке в поздних сроках гипоксии (через 2-3 часа).

Изучение динамики посмертных изменений в сопоставлении с изменениями при острой гипоксии позволило заключить, что нарушения ультраструктурной организации ткани легкого могут быть дифференцированы от посмертных лишь на протяжении 3-6 часов после смерти.

ГЛАВА 4

УЛЬТРАСТРУКТУРА ЛЕГКИХ ПЛОДОВ ЧЕЛОВЕКА И ЛЕГКИХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ, ПОГИБШИХ В АСФИКСИИ

1. Ультрaструктура легких плодов человека

Ультрaструктура легких изучалась у плодов человека, полученных путем операции малого кесарева сечения по поводу психического заболевания беременной женщины. Плановая операция кесаревого сечения проводилась в сроках от 20 до 28 недель беременности. Легкие плодов исследовались через различные промежутки времени после остановки дыхания. При этом были получены следующие результаты.

Через 25-30 минут после смерти исследовались легкие у плодов весом 700,0-800,0 при сроке беременности в 20,22 и 25 недель. При электронно-микроскопическом исследовании в легких на стенках цитовидных воздушных пространств выявляются кубовидные или местами цилиндрические эпителиальные клетки, расположенные на базальной мембране. Поверхность клеток сравнительно ровная без заметных цитоплазматических выпячиваний. Типичные микроворсинки отсутствуют. Межклеточные границы четкие.

Характерной особенностью фетальных легких в этом периоде является наличие между двумя плотно соприкасающимися эпителиальными клетками светлых лакун в виде баллоноподобных расширений межклеточного пространства (рис. 133). Плазматические мембраны соприкасающихся клеток в местах расширений сохраняют свою толщину и непрерывность. Аналогичные расширения видны и в межклеточных границах септальных клеток (рис. 134).

Другой особенностью является наличие в эпителиальных клет-

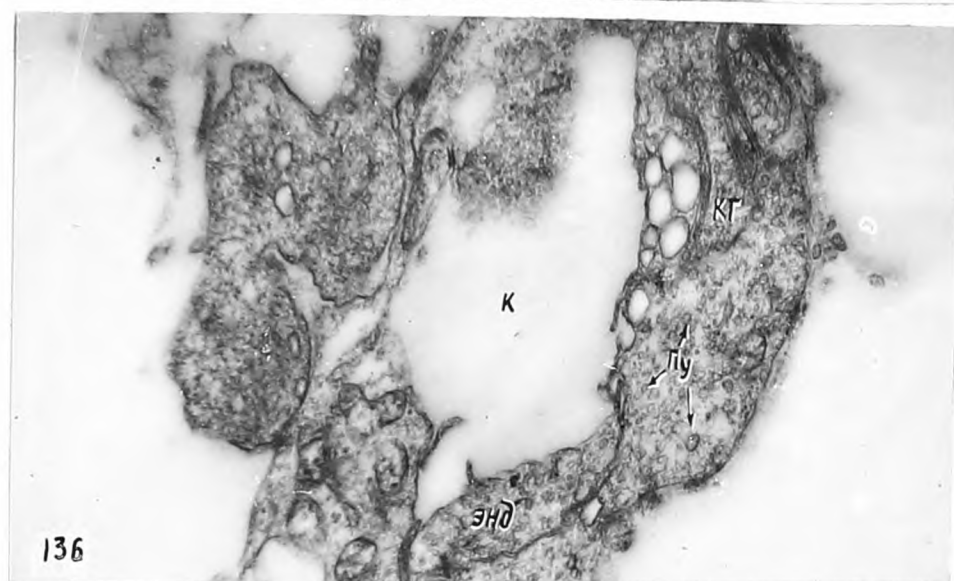
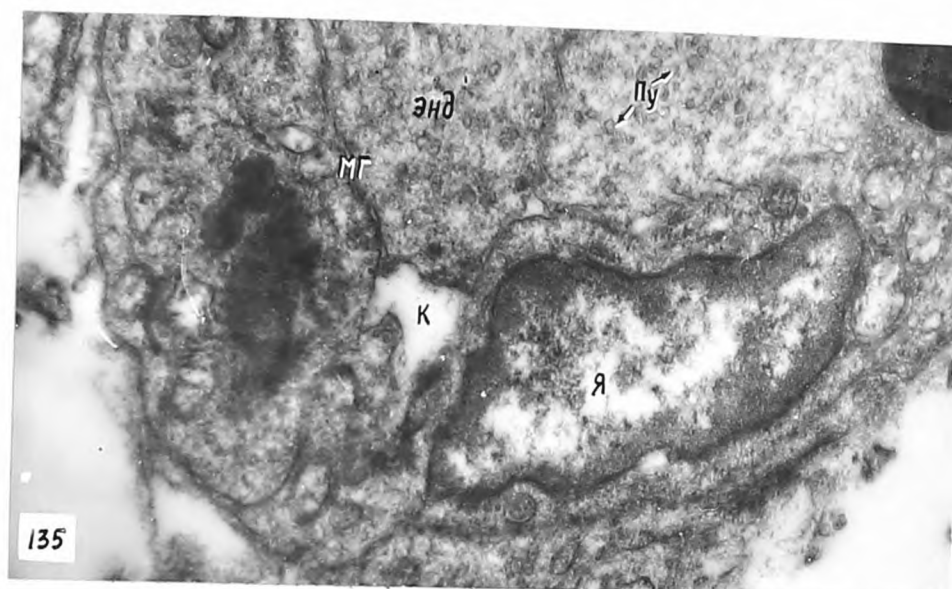


Рис. 135. Легочный капилляр (20 недельный плод человека); х 4000.

К-просвет капилляра; Я-ядро эндотелиальной клетки; МГ-межклеточные границы; Пу- пиноцитозные пузырьки.

Рис. 136. Легочный капилляр (25 недельный плод человека); х 4000.

КТ- комплекс Гольджи в эндотелиальной клетке (ЭНД).

ках больших ядер, занимающих большую часть клетки (рис. 133). Форма ядер ближе к удлинённо-овальной с более или менее равномерным распределением хроматина - в одних клетках, и нерезко выраженными явлениями агрегирования зерен хроматина - в других. Вокруг ядер в цитоплазме видны митохондрии овальной формы или удлинённой, типичного строения. В цитоплазме встречаются липидные капельки неопределённой формы, но обычной электронной плотности. Видны также сравнительно мелкие вакуоли.

Лёгочные капилляры характеризуются чрезвычайно узким просветом (рис. 135). Они образованы скоплением нескольких клеток довольно разнообразной формы, но уже с типичными для эндотелиальных клеток ядрами с неровными контурами и светлыми участками в нуклеоплазме. Цитоплазма эндотелиальных клеток, по сравнению с эпителиальными, более плотная и содержит пиноцитозные пузырьки. На рис. 136 показан более сформированный капилляр в лёгком 25 недельного плода. В эндотелиальных клетках матрикс цитоплазмы почти нормальной электронной плотности. Видно больше количество пиноцитозных пузырьков, заполненных содержимым несколько большей плотности, чем плотность окружающей их цитоплазмы. В одной из клеток видны светлые вакуоли (В), примыкающие к очень уплощенным цистернам, вероятно, входящих в комплекс Гольджи (КГ).

В воздушных пространствах формирующихся альвеол обнаруживаются эпителиальные клетки, отличающиеся от вышеописанных своей уплощенной формой. Между собой они соприкасались только в базальных отделах. Эти клетки отличаются друг от друга по форме и величине.

В клетках большого размера вокруг ядра, уже шаровидной

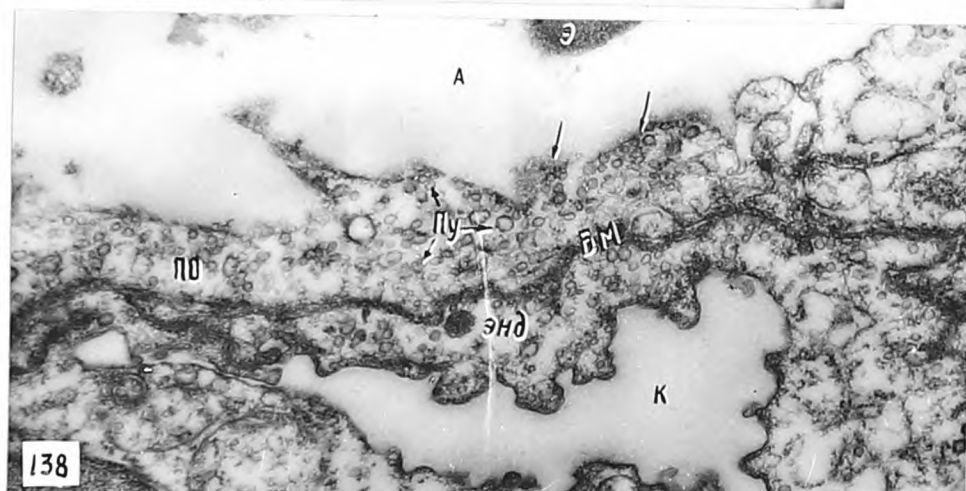
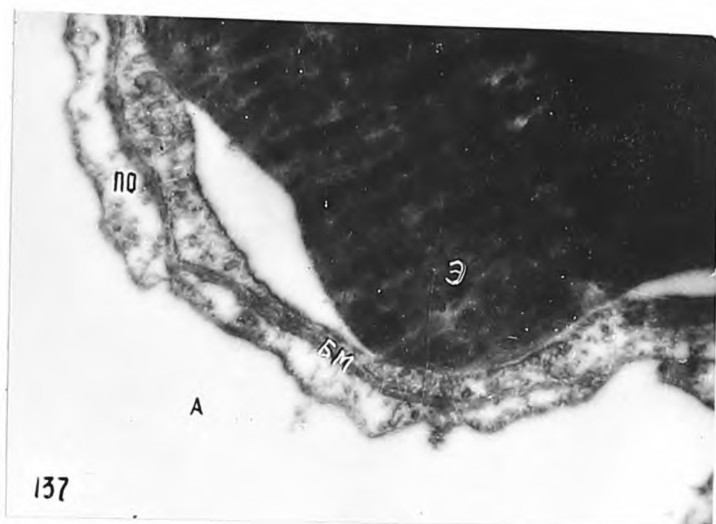


Рис. 137. Участок воздушно-кровеносного барьера легких 28 недельного плода человека; $\times 15000$.

А-просвет альвеолы; ПО - цитоплазма пластинчатого отростка; БМ- базальная мембрана; ЭНД - цитоплазма эндотелия; Э - эритроцит в просвете капилляра.

Рис. 138. Большое количество пиноцитозных пузырьков (Пу) в цитоплазме пластинчатого отростка (ПО) и эндотелии (ЭНД) капилляра в легком 28 недельного плода человека; $\times 20000$.

формы, наряду с митохондриями выявляются единичные плотные тельца, имеющие размеры несколько большие, чем митохондрии. Клетки меньшего размера своими уплощенными участками цитоплазмы образуют покрытие капиллярной стенки со стороны просвета воздушного пространства. В этих участках между базальной мембраной эндотелия и базальной мембраной эпителиальных клеток выявляются сравнительно широкое соединительнотканное пространство.

Большие и малые эпителиальные клетки имеют ультраструктуру сходную с ультраструктурой альвеолярных клеток соответственно типу II и типу I, показанной нами в экспериментальной части, а также описанной рядом авторов в легких новорожденных детей (*Campiche*, 1961; *Gronowski*, 1964; *Balis*, 1966). При дальнейшем изложении указанные клетки мы именуем как альвеолярные клетки типа II и типа I.

Совершенно иная картина обнаруживается в легких 28 недельного плода, дышавшего после извлечения около двух часов. В легких на стенках расправленных альвеол чаще наблюдаются альвеолярные клетки типа I. Эти клетки своими очень тонкими цитоплазматическими отростками покрывают выступающие в просвет альвеолы петли капилляров и, распространяясь дальше, соединяются со следующей альвеолярной клеткой, образуя непрерывность альвеолярной выстилки. Следует подчеркнуть, что в местах соприкосновения пластинчатого отростка с соседней клеткой всегда видна межклеточная граница. Она образована двумя плазматическими мембранами соприкасающихся клеток, разделенных чрезвычайно узкой полоской межклеточного пространства.

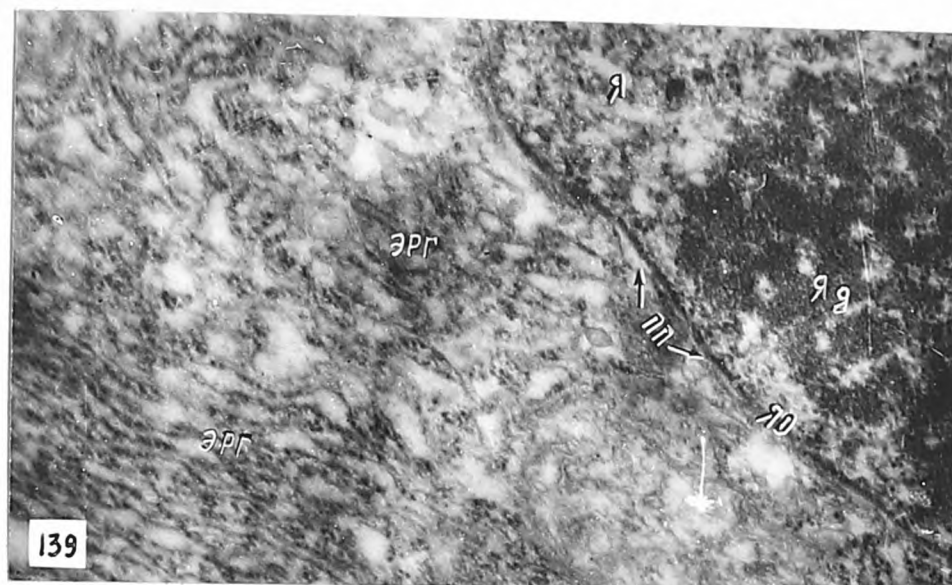
В цитоплазме альвеолярных клеток типа II, базальная часть

которых чаще расположена в нишах между петель капилляров, вы - являются немногочисленные каналцы и цистерны эндоплазматического ретикулума, митохондрии типичной структуры, липидные капельки и осmioфильные тельца, состоящие из концентрически расположенных пластинок. Иногда видны тельца типа войлокообразных, и довольно плотные образования, напоминающие формой и размерами лизосомы. На свободной поверхности этих клеток видны микроворсинки.

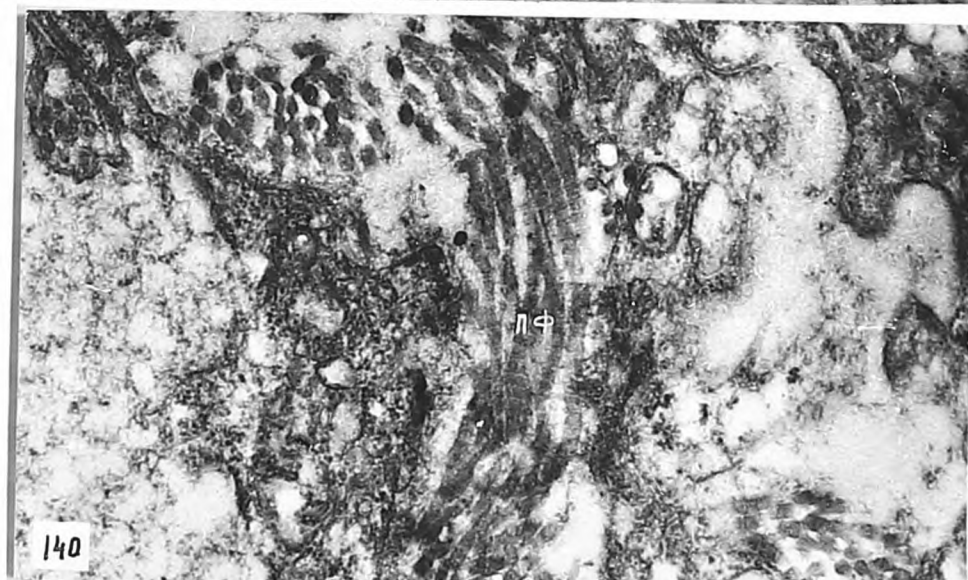
Во всех капиллярах легких видна сравнительно тонкая непрерывная выстилка эндотелия, лежащая на базальной мембране. Непрерывность обусловлена наложением уплощенной части одной клетки на другую, однако без слияния плазматических мембран клеток: между ними всегда выявляется светлое узкое пространство.

В участке капиллярной стенки, выступающей в просвет альвеолы, выявляется трехслойная (чаще) или пятислойная (реже) структура воздушно-кровеносного барьера, то-есть слой эндотелия и слой цитоплазмы пластинчатого отростка разделяются одной или двумя базальными мембранами (рис. 137).

В цитоплазме пластинчатых отростков (ПО) альвеолярных клеток отчетливо видны многочисленные пиноцитозные пузырьки (ПУ) с тонкой плотной оболочкой. Содержимое пузырьков большей плотности, чем плотность матрикса цитоплазмы. Плазматическая мембрана в области стрелок не видна и пузырьки ничем не ограничены от просвета альвеолы (рис. 138). На рисунке видна базальная мембрана (БМ), которая отделяет цитоплазму пластинчатого отростка от эндотелия (ЭНД) не полностью раскрывшегося капилляра. Просвет капилляра имеет фестончатый вид из-за очень неровного края эндотелия с многочисленными выпячиваниями цитоплазмы. В эндотелии



139



140

Рис. 139. Участок септальной клетки с хорошо развитым гранулярным эндоплазматическим ретикулулом. Легкое плода человека; х 24000.

Я-ядро; Яд- ядрышко; ПП-перинуклеарное пространство ядерной оболочки (ЯО).

Рис. 140. Типичное строение первичных фибрилл (ПФ) коллагеновых волокон. Легкое плода человека; х 15000.

также видны пиноцитозные пузырьки, но в меньшем количестве, чем в цитоплазме пластинчатого отростка альвеолярной клетки типа I. В просвете альвеолы видна часть эритроцита (Э) обычной плотности.

В респираторных бронхиолах наряду с клетками, сходными с альвеолярными клетками типа II, видны клетки, свободная поверхность которых усеяна мерцательными ресничками. В центре реснички расположены одинарные нити, которые окружены 9 двойными нитями, находящимися по периферии реснички. Каждая ресничка окружена своей мембраной, переходящей в плазматическую оболочку клетки.

В межалвеолярной перегородке обнаруживаются септальные клетки различного вида. Одни из них характеризуются небольшим слоем светлой цитоплазмы вокруг овального ядра, в котором хроматин распределен равномерно по всему ядру. Другие, наоборот, отличаются обилием сравнительно плотной цитоплазмы, в которой находится ядро со светлой нуклеоплазмой и скоплением хроматина под волнистой оболочкой ядра. Видны клетки и с типичной ультраструктурой фибробласта, а также клетки, сходные по структуре с плазматическими. На рис. 139 виден участок клетки с многочисленными канальцами гранулярной формы эндоплазматического ретикулула (ЭРГ).

В правом углу рисунка видна часть ядра с хорошо заметными переплетением утолщенных шнуровидных нитей, состоящих из скоплений плотных мелких зернышек. Подобное образование, исходя из данных литературы (Поликар и Бо, 1962), можно рассматривать как ядрышко (Яд) в ядре, находящегося в одной из фаз митоза. Ядро ограничено ядерной оболочкой (ЯО) с узкой палоской пери

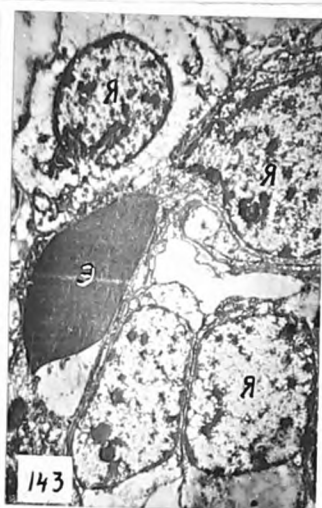
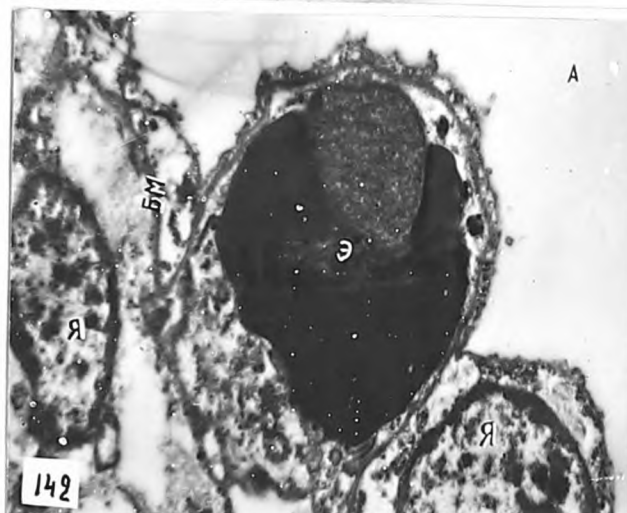
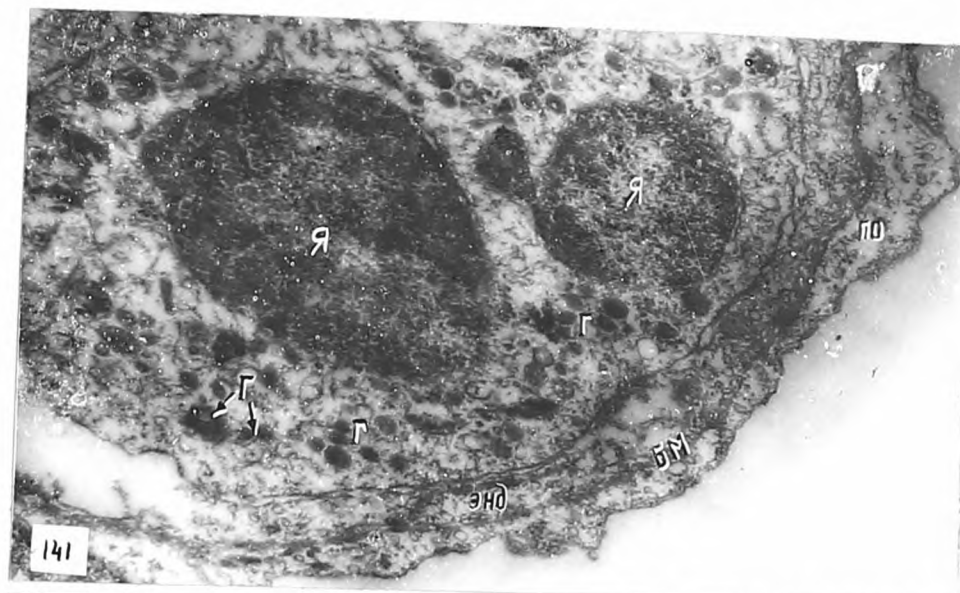
нуклеарного пространства (III). Остальная часть цитоплазмы клетки заполнена канальцами гранулярной формы эндоплазматического ретикулума (ЭРГ).

В межалвеолярной перегородке, наряду со светлыми полосками эластических волокон, обнаруживаются редкие, но типичной ультраструктуры первичные фибриллы волокон ретикулина и коллагена (рис. I40).

Таким образом, в субмикроскопическом строении легких 28 недельных плодов человека (при нормально протекающей беременности) обнаруживается ультраструктурная организация эпителиальной и эндотелиальной выстилок, соответствующая в своей основе таковой не только в наших экспериментальных наблюдениях, но и описанной в легких различных лабораторных животных (*Low*, 1953; *Schulze*, 1959; *Reid Bosch, Spitz*, 1966; Х.С. Нугманова и А.Э. Шкутин, 1967; Р.О. Морозова и Н.И. Морохова, 1968 и др.) и в легких взрослых людей (*Schulze*, 1959; Поликар и Бо, 1962; *Diveitie et al*, 1964 и др.).

Вышеописанные структурные особенности легких плодов спустя 1 час после смерти сохраняются. Не отмечено каких-либо изменений в общей структуре и через 3 часа после смерти.

На рис. I41 представлен участок воздушно-кровеносного барьера в легком исследованного через 3 часа после смерти 28 недельного плода. Часть капиллярной стенки видна в поперечном сечении. В просвете капилляра находится сегменто-ядерный лейкоцит. Между плазматическими мембранами лейкоцита и эндотелия просматривается узкий светлый промежуток. В цитоплазме пластинчатого отростка и эндотелия видны пиноцитозные пузырьки. Базальная мембрана (БМ) нечеткая, местами состоящая как бы из очень мелких пузырьков. Вокруг ядра лейкоцита в большом количестве разбросаны очень



Посмертные изменения в легких 28 недельного плода человека (описание в тексте).

Рис. 141. Участок воздушно-кровеносного барьера;
х 12000.

В просвете капилляра находится сегментоядерный лейкоцит.

Рис. 142. Участок альвеолярной стенки с петлей капилляра, выступающей в просвет альвеолы;
х 4000.

Рис. 143. Участок межалвеолярной перегородки;
х 3000.

ютные осмиофильные гранулы (Г), у которых при большом увеличении видна тонкая оболочка, под которой отмечается меньшая плотность вещества гранулы, чем в ее центре. Необходимо отметить резкое просветление матрикса цитоплазмы пластинчатых отростков и эндотелия, а также цитоплазмы лейкоцита. Подобная потеря электронной плотности матрикса цитоплазмы является, повидимому, следствием полимеризационных повреждений при заливке в метакрилаты.

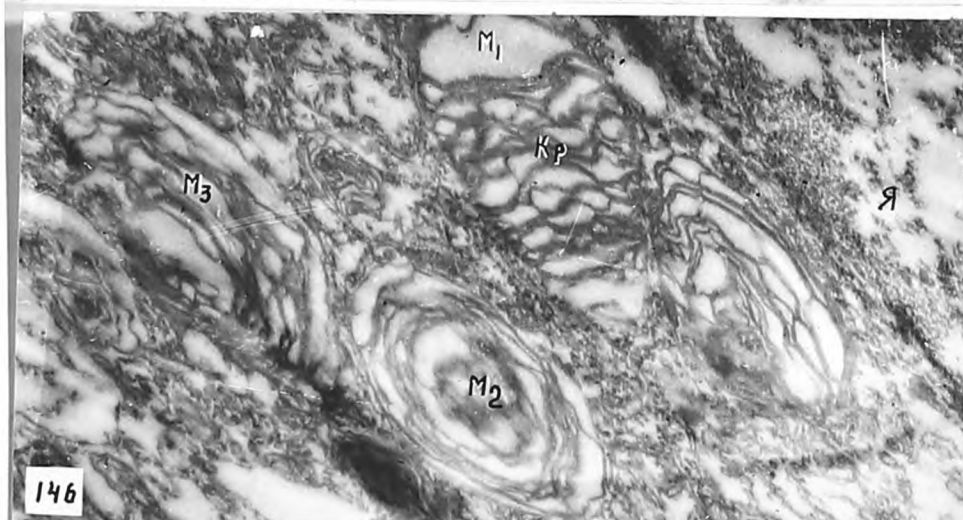
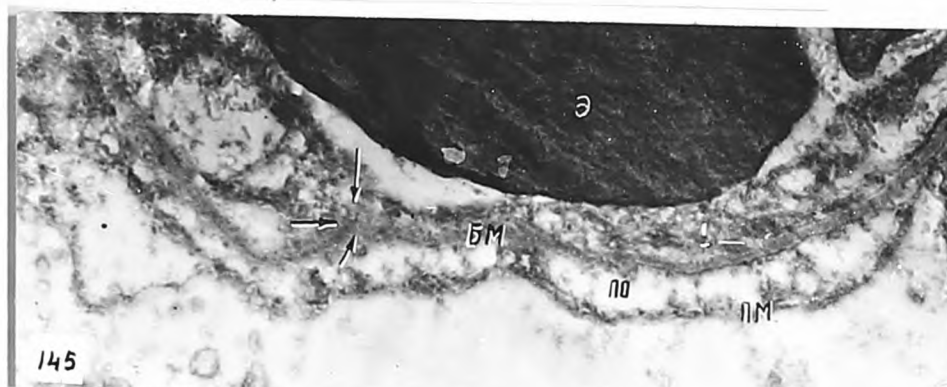
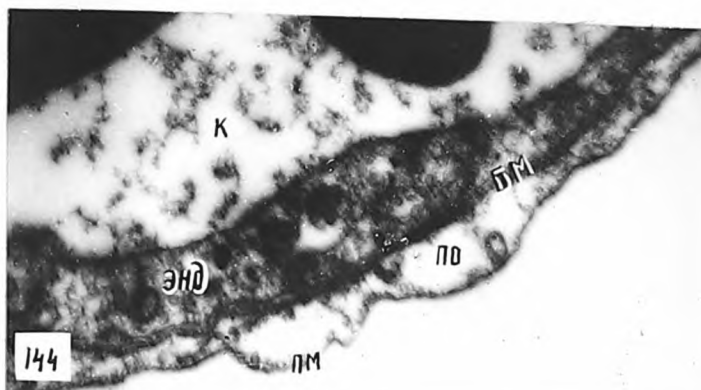
Через 6 часов посмертные изменения заметно нарастают и к 12 часам приобретают резко выраженный деструктивный характер: опустошение ядер, разрушение митохондрий и других оргanelл клеток, полное просветление матрикса цитоплазмы, разрывы плазматических мембран клеток и др. изменения.

Через 24-48 часов после смерти ультраструктура ядра всех клеток разрушается. Ядра приобретают "пустой" вид, с редкими скоплениями комков хроматина. Цитоплазма клеток также запустевает, расположенные в ней оргanelлы разрушаются (рис. 142, 143).

Резюмируя вышеизложенные данные, можно отметить следующее.

В легких плодов, полученных путем операции малого кесарева сечения при нормально развивавшейся беременности, выявляется полностью сохранившаяся ультраструктурная организация легочной ткани, если легкие зафиксированы через 25-30 минут после смерти.

Характерной особенностью фетальных легких является наличие клеток различного размера на протяжении межклеточных границ и прилегающих клеток, а также непропорциональное соотношение между большими ядрами и незначительным количеством цитоплазмы клеток.



Изменения в легких новорожденных детей, исследованных через различные промежутки времени после смерти (описание в тексте).

Рис. 144. Участок воздушно-кровеносного барьера; $\times 10000$ (3 часа после смерти).

Рис. 145. Аналогичный участок, но через 6 часов после смерти; $\times 10000$.

Рис. 146. Пластинчато измененные митохондрии (M_1-M_4) в различном сечении; 24000 (8 часов после смерти).

В легких 28 недельного плода ультраструктура клеток альвеолярной выстилки и в целом воздушно-кровеносного барьера уже соответствует ультраструктуре воздушно-кровеносного барьера новорожденного и взрослого человека.

Развитие посмертных изменений в легких 28 недельных плодов при отсроченной фиксации происходило несколько быстрее, чем в легких экспериментальных животных. Характер этих изменений в общем был однотипен с изменениями, наблюдаемыми в эксперименте.

2. Субмикроскопические изменения в легких новорожденных детей, погибших в асфиксии

При сопоставлении ультраструктуры легких 28 недельных плодов с таковой у недоношенных и доношенных новорожденных выявляются фактически одинаковое строение альвеолярной и эндотелиальной выстилок и в целом воздушно-кровеносного барьера. Отличия касаются в основном количественного соотношения сформированных воздушно-кровеносных барьеров и альвеолярных клеток типа I и типа II.

В альвеолах легких новорожденных, перенесших приступы асфиксии и погибших при явлениях прогрессирующей асфиксии, выявляется меньшее количество сформированных воздушно-кровеносных барьеров. При этом в нерасправленных и плохо расправленных альвеолах обнаруживается преобладание альвеолярных клеток типа II. В расправленных, воздушных участках легкого в альвеолах преобладают клетки типа I. Эти клетки своими тонкими пластинчатыми отростками покрывают выступающие в просвет альвеолы стенки капилляров, формируя, тем самым, нормальные воздушно-кровеносные барьеры. В легких глубоконедошенных новорожденных (при весе 1000-1500 г) в щелевидных, не расправившихся альвеолах, большая

часть стенок капилляров покрыта утолщенным слоем цитоплазмы альвеолярных клеток типа II. В подобных случаях между соприкасающимися альвеолярными клетками обнаруживаются мешковидные или баллоноподобные расширения межклеточных границ, которые были отмечены нами еще в легких у 20-25 недельных плодов.

На фоне вышеописанной ультраструктурной организации воздушно-кровеносного барьера дышавших легких у новорожденных, погибших в асфиксии, обнаруживаются весьма выраженные изменения ультраструктур клеток легочной паренхимы.

Так, в легких новорожденных, погибших в асфиксии и исследованных спустя 3 часа после смерти, выявляется довольно выраженное агрегирование хроматина в ядрах альвеолярных, эндотелиальных и септальных клеток, набухание и вакуолизация митохондрий и эндоплазматического ретикулума, резкое снижение электронной плотности матрикса цитоплазмы клеток, уменьшение количества рибосом, лизосом и почти полное отсутствие пластинчатых включений.

В воздушно-кровеносном барьере хорошо расправленных альвеол обнаруживается в одних случаях выраженная вакуолизация эндотелия и наличие мелких пузырьков в цитоплазме пластинчатых отростков. В других - набухание и потеря электронной плотности всех слоев барьера с сохранением непрерывности базальной мембраны (БМ) и целостности плазматических мембран (ПМ) эндотелия и пластинчатых отростков (рис. 144).

В легких, исследованных через 6-8 часов после смерти, описанные изменения заметно возрастают, особенно в области воздушно-кровеносного барьера. Плазматическая мембрана (ПМ) светлых пластинчатых отростков (ПО) выглядит в виде толстой бесфор-

менной линии; базальная мембрана (БМ) в одних участках может быть почти нормальной толщины и плотности, в других - размытой, сливающейся с бесформенными частицами (на рис. обозначено стрелками) цитоплазмы пластинчатого отростка и эндотелия (рис. 145).

Весьма характерны изменения митохондрий как альвеолярных, так и других клеток. Одни из них претерпели изменения по типу пластинчатого преобразования, другие по типу резкого набухания и запустения.

В первом случае увеличенные в размерах митохондрии выполнены искривленными пластинчатыми кристами (КР), расположенными либо поперечно (M_1), либо концентрическими (M_2), или продольными слоями (M_3). Подобное изображение зависит, повидимому, от плоскости среза (рис. 146).

Изменение митохондрий по типу набухания и запустения наиболее полно выявляется в легких новорожденных, у которых отмечены внутриутробная асфиксия, многократные приступы асфиксии после рождения и гибель при явлениях прогрессирующей асфиксии.

Деструктивный характер повреждения митохондрий более резко подчеркнут в случаях исследования легких спустя 8-10 часов после смерти. В цитоплазме большинства клеток на месте митохондрий видны различного размера, круглой формы, совершенно светлые вакуоли. Наличие у вакуолей более или менее четкой оболочки, часто двойной, под которой определяются обрывки двойных крист, а также плотные осмиофильные комочки, дает основание считать, что эти вакуоли образовались путем набухания и запустения митохондрий.

Так, на рис. 147 в сильно измененном эндотелии капилляра видны круглые пустые вакуоли. Стрелками обозначены осмиофиль -

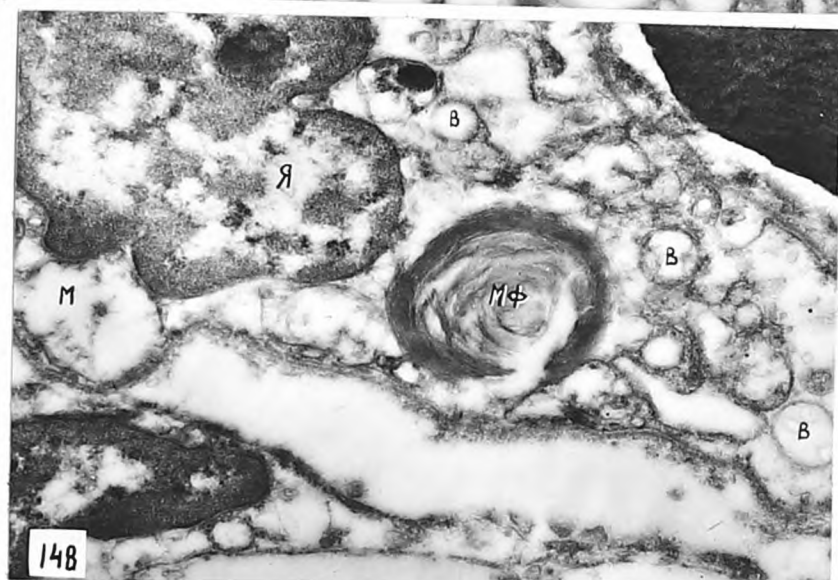
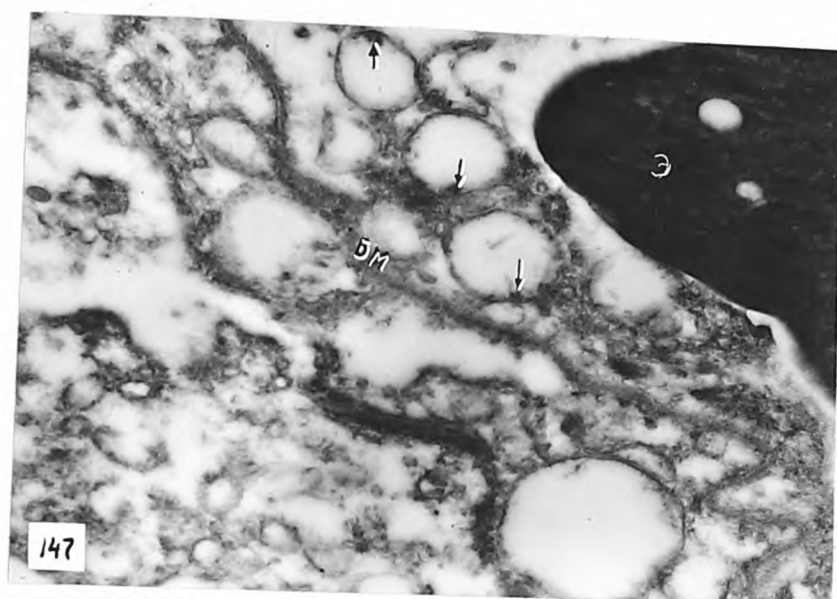


Рис. 147. Образование светлых вакуолей на месте бывших митохондрий; $\times 10000$ (10 часов после смерти).

Рис. 148. Вакуолизация (В) и наличие миелоноподобных фигур (МФ) в цитоплазме септальной клетки; $\times 10000$ (10 часов после смерти).

ные комочки и остатки крист под оболочкой вакуолей. Базальная мембрана (БМ) эндотелия видна в виде размытой нечеткой линии.

Наряду с вышеописанными митохондриями в альвеолярных, а также в септальных клетках выявляется заметное нарастание миэлиноподобных фигур, различающихся по своим размерам и структуре. Одни из них состоят из концентрически расположенных довольно грубых волокон, разделенных светлыми неравномерными промежутками. Другие, как это видно на рис. 148, состоят из очень плотно упакованных тонких, также концентрически закрученных нитей. Данная миэлиноподобная фигура (МФ) находится, вероятно, в стадии деструктивного распада. Вокруг нее в цитоплазме септальной клетки видны светлые вакуоли (В), а под ядром набухшая и запустевшая митохондрия (М).

Иной характер субмикроскопических повреждений обнаруживается в легких новорожденных, взятых для исследования спустя 12-18 часов после смерти. Данные электронных микрофотографий выявляют фактически однотипный характер разрушения ультраструктурной организации клеток. Не обнаруживается какой-либо зависимости между ультраструктурными изменениями в легких, вызванных асфиксией, и характером патологии беременности и родов, а также степенью недоношенности новорожденного ребенка и продолжительностью его жизни.

Так, например, в легких глубоко недоношенных новорожденных, исследованных через 12 часов после смерти, на фоне обширных полостей ателектаза наряду с эмфизематозно растянутыми респираторными бронхиолами и альвеолярными ходами видны узкие спавшиеся альвеолярные ходы (АХ). В них открываются целовидные альвеолы, в просвет которых выступает очень незначительная по протяжению часть

капиллярных стенок (показано стрелками), часто утолщенных (рис. 149). Просветы капилляров выполнены эритроцитами резко измененной формы, но сохраняющими в большинстве случаев обычную электронную плотность. Довольно часто в эритроцитах видны круглые или овальные отверстия. Иногда они содержат в себе различные включения той же плотности, что и у эритроцитов (рис. 150).

На электронных микрофотографиях отчетливо выявляется вакуолизация цитоплазмы всех клеток легочной ткани (рис. 151). Клетки имеют пустой вид из-за отсутствия какой-либо электронной плотности матрикса цитоплазмы клеток и матрикса измененных митохондрий.

В случае аспирации околоплодными водами в дыхательных путях выявляются клетки (КЛ), ультраструктурная организация которых резко отличается от измененных клеток легочной паренхимы (рис. 151). В них видны почти нормальной плотности матрикс цитоплазмы, вакуоли (В) с четко очерченной оболочкой, многочисленные микроворсинки (МВ) на поверхности клетки (рис. 152).

Посмертные изменения длительностью в 12 часов не вызвали в аспирированных (амниотических и др.) клетках той дезорганизации ультраструктуры, которая наблюдалась в клетках самой легочной ткани, изменившихся под действием прижизненной гипоксии и посмертного аутолиза.

Тщательный анализ электронных микрофотографий показывает, что запустение цитоплазмы клеток и появление в них огромных пустых вакуолей обусловлено слиянием мелких и средних вакуолей с набухшими пустыми митохондриями. В виду довольно выраженного полиморфизма структурных нарушений митохондрий, выявляемого в пределах даже одной клетки, представляется возможным проследить последовательность запустевания цитоплазмы клеток.

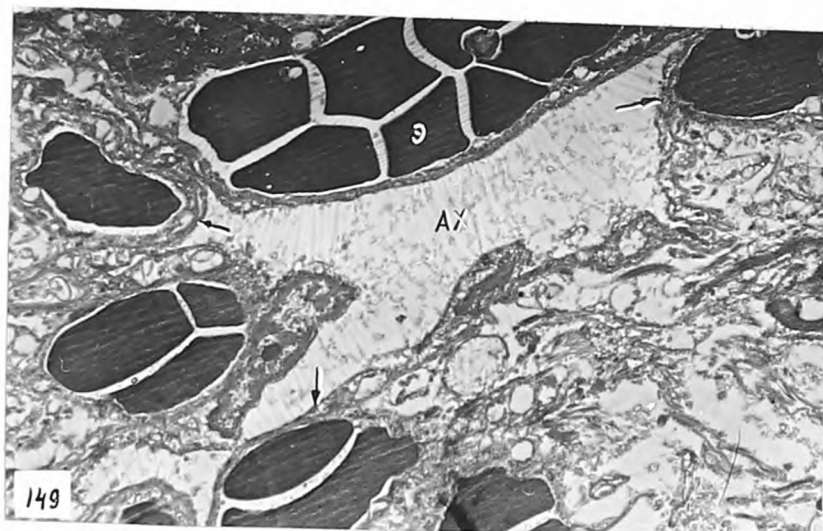


Рис. 149. Участок легкого у глубоко недоношенного новорожденного; $\times 2000$ (12 часов после смерти)
АХ- альвеолярный ход; Э- эритроциты в просвете капилляров; Я-ядро.

Рис. 150. Включение в эритроците; 20000 (12 часов после смерти).

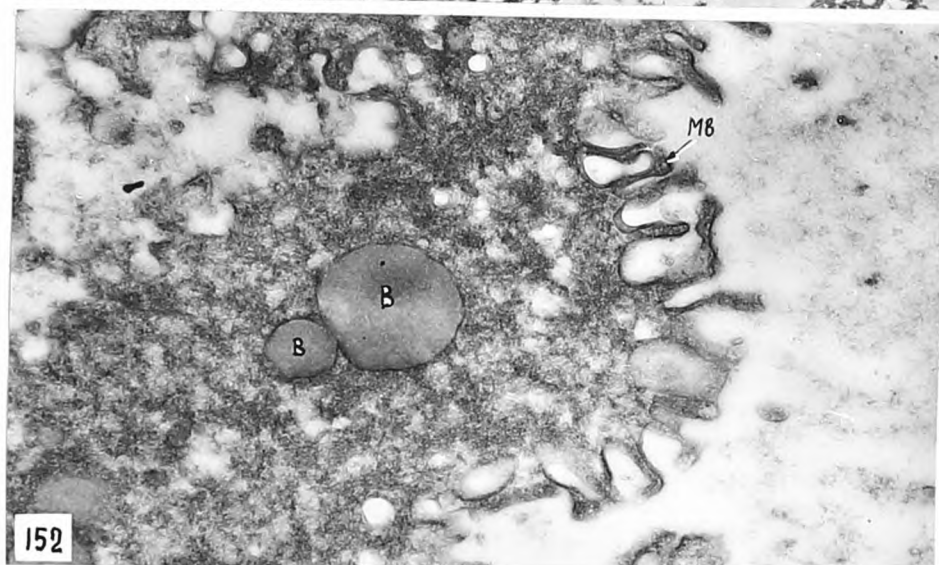


Рис. 151. Участок легкого у глубоко недоношенного новорожденного; $\times 2000$ (12 часов после смерти). Видна резкая вакуолизация (B) цитоплазмы клеток.

Рис. 152. Участок аспирированной клетки без каких-либо признаков посмертных изменений. B-вакуоли; M8-микроворсинки; $\times 10000$ (фрагмент рис. 151).

Так, в легких новорожденных взятых для исследования через 2 часов после смерти, в наиболее сохранившихся клетках видны митохондрии, находящиеся в различных стадиях набухания. В одних из них (M_1) на светлом фоне матрикса выявляются в разном количестве фрагменты и обрывки двойных крист (KP), плотные осмиофильные комочки (показаны стрелками) и истонченная наружная мембрана. Другие (M_2) со смазанными, бесформенными наружными мембранами содержат многочисленные мелкие обрывки крист (рис. 153). В этом рисунке около митохондрий видны также светлые вакуоли (B), значительные скопления (CK), возможно, агрегированных рибосом. Отдельных же рибосом в цитоплазме не видно. У ядра ($Я$) на некотором протяжении еще заметна двойная, собранная в складки ядерная оболочка ($ЯО$).

В других клетках аналогичные митохондрии (M) часто соприкасаются с пластинчато измененными митохондриями (M_1) и вакуолями с тонкой разрушающейся оболочкой. Возможно, что эти вакуоли являются распадающимися митохондриями (M_2). В участках, обозначенных стрелками, видны как бы сливающиеся между собой наружные мембраны измененных митохондрий (рис. 154).

В легких, исследованных через 14-16 часов после смерти, среди полностью запустевших митохондрий встречаются огромные, неправильной формы набухшие митохондрии. Оболочка их в некоторых местах двухслойная. Под оболочкой видны обрывки также двухслойных крист, скопления аморфного вещества средней плотности и отдельные, резко осмиофильные комки. Очень часто подобные митохондрии соприкасаются с соседними светлыми вакуолями, как это видно на рис. 155, где под разрушающейся плазматической мембраной (PM) расположены сильно набухшая митохондрия и две вакуоли (B_1 , B_2).

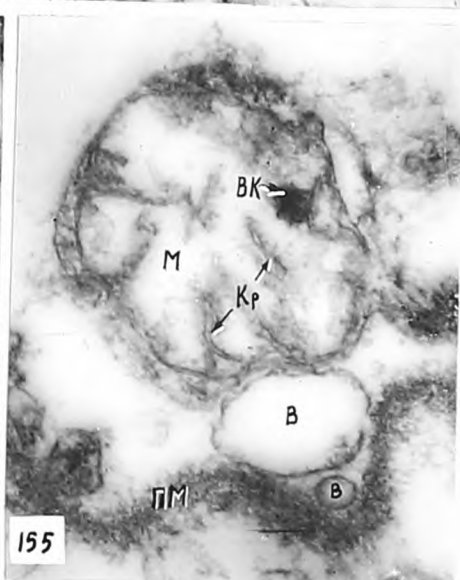
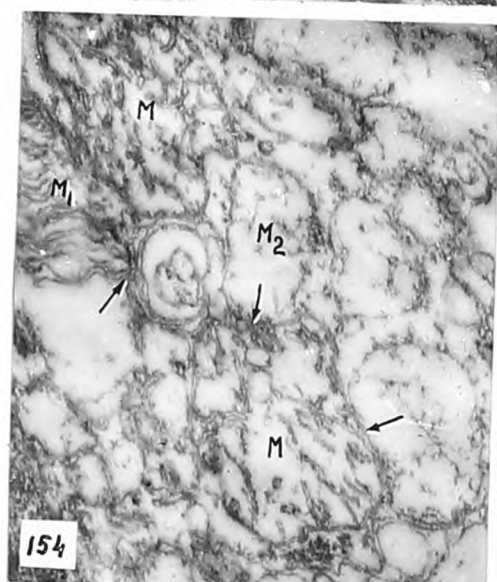
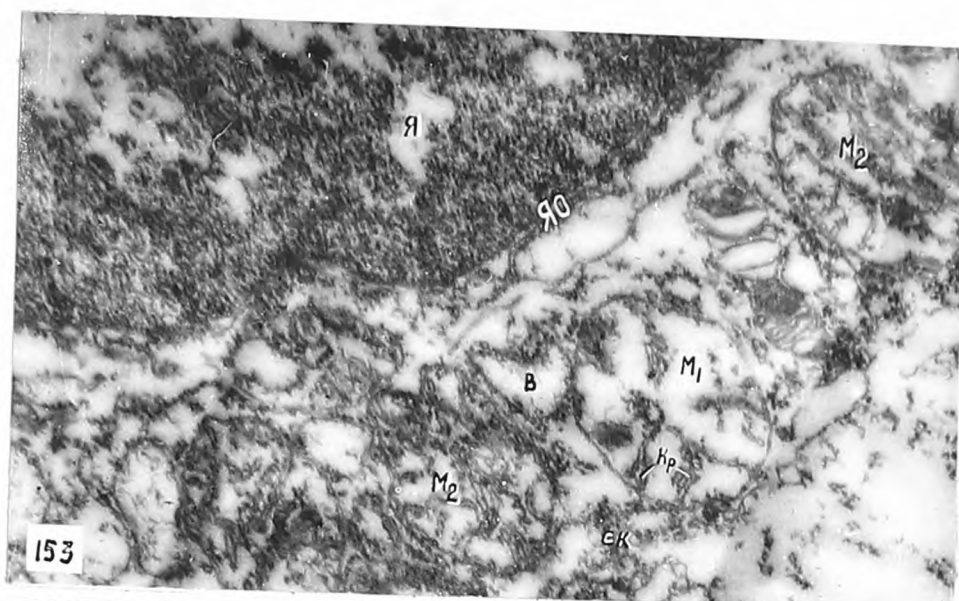


Рис. 153 и 154 - Различная степень деструкции митохондрий (М); $\times 24000$ (12 часов после смерти).

Рис. 155. Сильно набухшая митохондрия (М) и вакуоли под разрушающейся плазматической мембраной (ПМ) клетки;
 $\times 32000$ (16 часов после смерти)

Кр - кристы митохондрии; ВК - осмиофильное включение.

различного размера. Подобное расположение вакуолей и измененных митохондрий еще раз наводит на мысль, что образование больших вакуолей и полостей в клетках и внеклеточных пространствах происходит путем слияния мелких вакуолей между собой, а образовавшиеся более крупные вакуоли сливаются в свою очередь с запустевшими разбухшими митохондриями. Рис. 156, 157, 158 и 159 подкрепляют данную мысль. Характерно, что на этих рисунках во многих больших вакуолях под оболочкой видны обрывки крист и плотные комочки (отмечены стрелками), что говорит за их митохондриальное происхождение.

Миэлиноподобные фигуры при данных сроках посмертных изменений имеют весьма различный вид, обусловленный, вероятно, степенью их деструкции. Сравнительно редко выявляются миэлиноподобные фигуры, показанные на рис. 160. Чаще видны фигуры, видимые на рис. 161 и 162. Огрубение и распад концентрически расположенных волокон приводит к запустению миэлиноподобных фигур. В последнем случае они часто окружены вакуолями различного размера (рис. 163).

Резкие изменения выявляются и в воздушно-кровеносном барьере легких. Эти изменения тем более выражены, чем позднее проведено вскрытие новорожденного, погибшего в асфиксии. В случаях, когда легкие были взяты для исследования через 12-16 часов после смерти не представляется возможным по характеру повреждений ультраструктуры воздушно-кровеносного барьера сказать, являются ли данные изменения следствием прижизненной асфиксии или следствием развившихся после смерти процессов аутолиза.

Так, на рис. 164 виден просвет не расправившейся альвеолы (А), заполненный рыхлым содержимым умеренной плотности. Слева

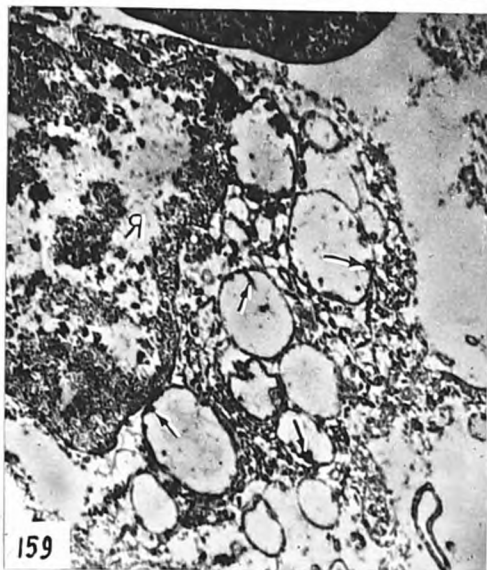
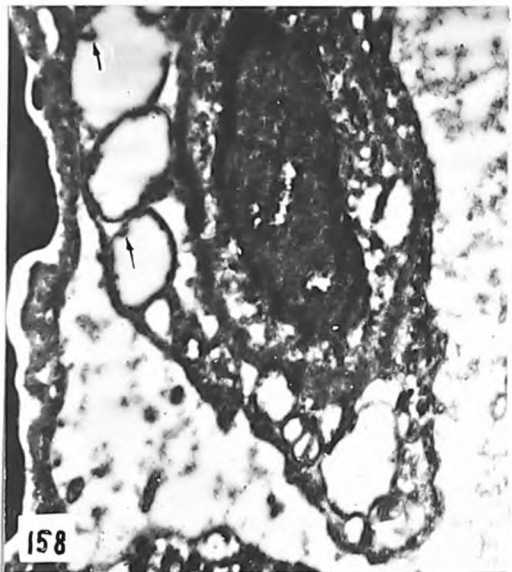
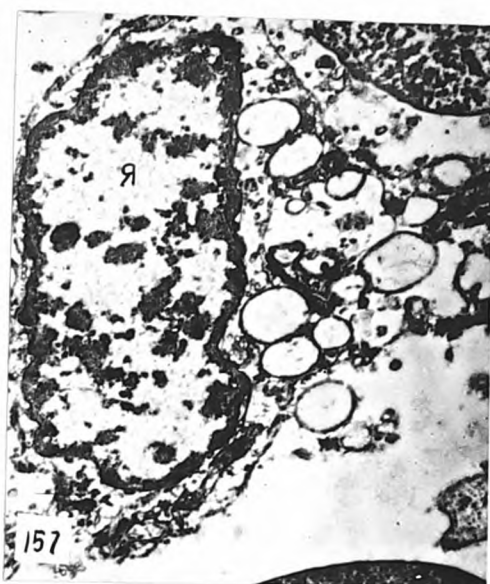


Рис. 156 - 159. Резкая вакуолизация цитоплазмы клеток за счет слияния запустевших митохондрий между собой и с мелкими вакуолями; х 13000 (12-18 часов после смерти).

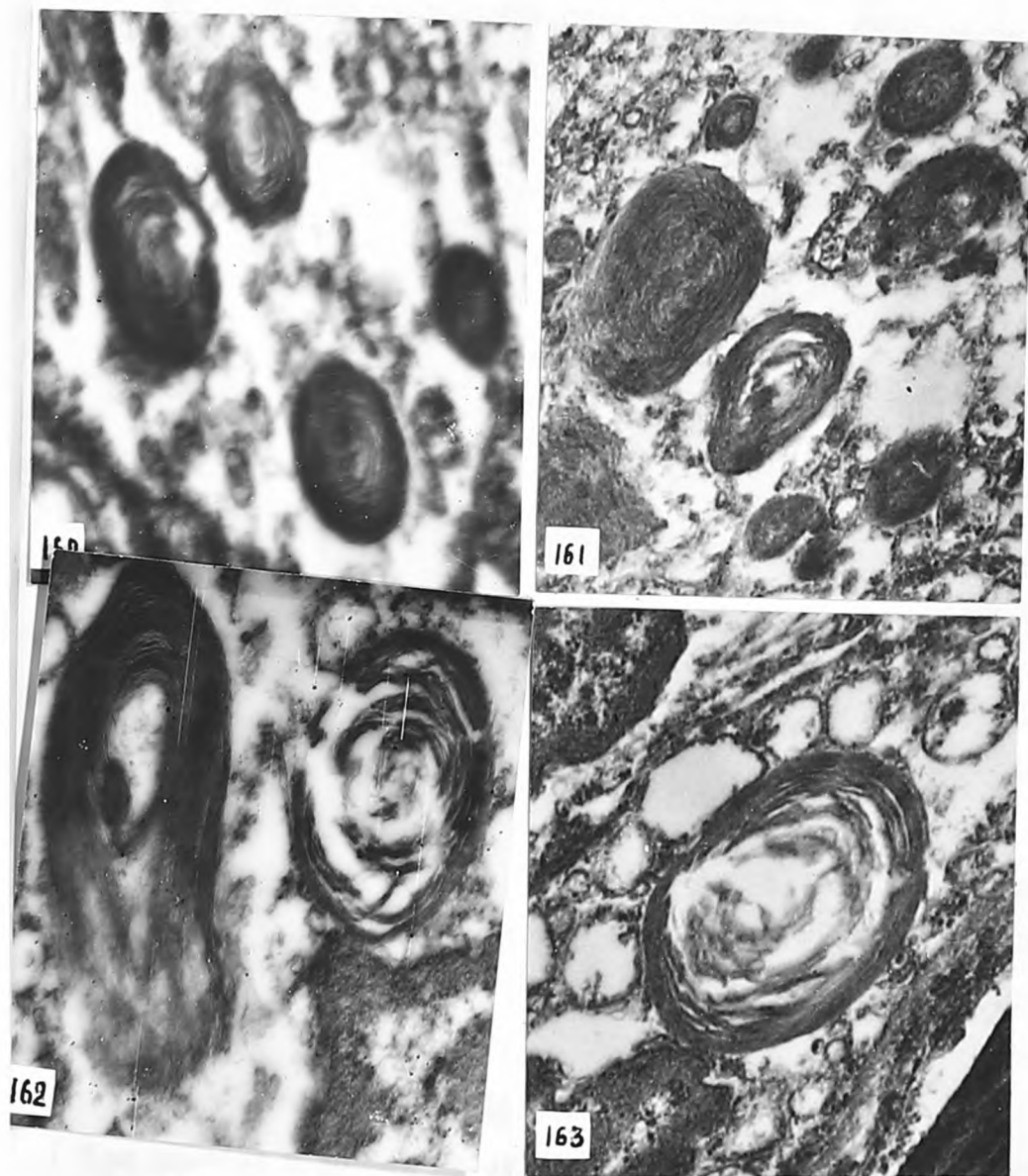


Рис. 160-163. Различная форма, размеры и структура миэлиноподобных фигур, обнаруживаемых в клетках и в межклеточных пространствах в легких новорожденных детей погибших от асфиксии. Увеличения рис. соответственно: $\times 20000$; $\times 10000$; $\times 20000$ и $\times 10000$.

в альвеолу выступает капиллярная стенка, бо́льшая часть которой занята ядром (Я) эндотелиальной клетки. Эндотелий (ЭНД) разрушился, в цитоплазме появились бесформенные частицы и вакуоли (В). Базальная мембрана просматривается в виде узкой слабо очерченной полоски. Пластинчатый отросток (ПО) выглядит в виде сплошь вакуолизированного бесформенного слоя. В нижнем правом углу рисунка видна часть капиллярной стенки с распадающейся базальной мембраной. Со стороны просвета альвеолы стенку покрывает не тонкий слой цитоплазмы пластинчатого отростка, как это обычно видно в сформированном воздушно-кровеносном барьере, а весьма значительная часть тела альвеолярной клетки типа II. В последней видны разрушенные митохондрии (M_T) и большие вакуоли, по-видимому, митохондриального происхождения. В верхнем правом углу расположено резко измененное ядро септальной клетки. На стенке альвеолы в области стрелок альвеолярная выстилка не определяется.

Аналогичные разрушения выявляются и в сформированном воздушно-кровеносном барьере расправленных альвеол в легких у новорожденных, проживших свыше суток. В просвете таких альвеол в отечной жидкости видны мелкие плотные частицы (Ч), вероятно, скопления плазменного белка (рис. 165).

При наличии в легких новорожденного, погибшего от асфиксии, гиалиновых мембран, последние чаще всего обнаруживаются в хорошо расправленных альвеолярных ходах и альвеолах. В таких легких, как правило, видны сформированные воздушно-кровеносные барьеры: тонкие слои эндотелия и цитоплазмы пластинчатого отростка альвеолярной клетки типа I разделяются базальной мембраной обычной толщины и плотности. В спавшихся целевидных альвеолах гиалиновые мем-

браны не обнаружены.

Гиалиновые мембраны выявляются в виде мелкозернистой основы, состоящей из скопления мелких, довольно плотных частиц. Они напоминают частицы, наблюдаемые в просвете капилляров и представляют, вероятно, агрегированный белок плазмы крови (рис. 166). На этом фоне видны многочисленные мелкие пузырьки (ПУ), вакуоли и большие вакуоли (В), либо светлые, либо с рыхлым содержанием (рис. 167). В них видны также обрывки, повидимому, мембранных структур клеток, обломки ядер и эритроцитов, фрагменты разрушенных митохондрий, волокна (В), иногда сохранившиеся тельца типа миэлиноподобных фигур (рис. 166, 167). Волокон фибрина с характерной для них поперечной исчерченностью в гиалиновых мембранах выявить не удалось.

Подобная структура гиалиновых мембран выявляется в легких новорожденных независимо от степени их доношенности и продолжительности жизни.

В случаях, когда гиалиновые мембраны соприкасаются с альвеолярным эпителием, последний чаще всего разрушен. Капиллярная стенка в этом месте приобретает вид утолщенной бесформенной линии, в которой ни базальная мембрана, ни слой цитоплазмы эндотелия не выявляются (рис. 168). Независимо от степени деструкции капиллярной стенки ее непрерывность сохраняется, сквозных разрывов или каких-либо отверстий в ней не обнаружено.

Однако и в тех альвеолах, в которых гиалиновые мембраны не соприкасаются с капиллярной стенкой, альвеолярный эпителий часто оказывается либо полностью разрушенным, либо чрезвычайно вакуолизированным, с образованием больших полостей, как это видно на рис. 169. Наличие в большой полости фрагментов крист и плот-

ых комочков говорит за то, что эта полость образовалась из (вух слившихся запустевших митохондрий. Базальная мембрана (БМ) нечеткая, местами плохо различимая.

В межалвеолярной перегородке встречаются ретикулиновые и коллагеновые волокна, состоящие из нескольких первичных фибрилл коллагена, у которых еще заметна поперечная исчерченность (рис. 170). Однако, чаще видны утолщенные, нечеткие, иногда фрагментированные фибриллы ретикулина и коллагена со смазанной поперечной исчерченностью.

В легких, исследованных через 24 часа после смерти, выявляются еще большие деструктивные повреждения: межклеточные границы не определяются, плазматические мембраны на большем протяжении разрушены, базальные мембраны и оболочки ядер истончаются и местами распадаются на отдельные фрагменты. Однако, в тех случаях, когда кусочки легких фиксировались в глутаральдегиде и закаливались в арайдит отмечается несколько меньшая степень ультраструктурной дезорганизации, чем при заливке в метакрилаты. Так, в ядрах различных клеток хроматин менее агрегирован, а базальные мембраны хотя и набухшие, но без явных разрывов (рис. 171).

Через 36-48 часов после смерти в легких выявляется сплошная вакуолизация всех клеток. Пустые ядра и расположенные вокруг них многочисленные вакуоли придают легочной ткани ячеистый вид (рис. 72, 173). Капиллярные стенки приобретают вид, показанный на рис. 74. Фактически от капиллярной стенки остается лишь базальная мембрана, зернистый вид которой говорит за то, что и она находится в стадии распада, но сохраняет еще свое расположение.

В легочной ткани, исследованной через 72 часа после смерти, ультраструктурная организация многих ее элементов не определя-

ется (рис. 175).

З а к л ю ч е н и е

Для фетальных легких в сроке 20-25 недель беременности характерным является наличие в эпителии междуклетками вакуолеподобных расширений межклеточных границ, а также наличие крупных ядер, занимающих большую часть клетки.

Ультраструктурная организация воздушно-кровеносного барьера, выявляемая в легких 27-28 недельных плодов, уже соответствует ультраструктуре воздушно-кровеносного барьера не только в легких у доношенных новорожденных, но и в легких взрослых людей.

У глубоконедоношенных новорожденных, перенесших приступы асфиксии и погибших в асфиксии, в участках ателектаза легкого обнаруживается фетальный тип строения альвеоло-капиллярных структур. Между соприкасающимися альвеолярными клетками видны вакуолеподобные расширения; воздушно-кровеносные барьеры утолщены, в их образовании принимают участие альвеолярные клетки типа II, а не пластинчатые отростки альвеолярных клеток типа I, как это наблюдается в легком доношенного новорожденного.

В легких новорожденных, погибших в асфиксии и исследованных через 3 часа после смерти, обнаруживается резкий внутриклеточный отек, сопровождающийся вакуолизацией и наличием большого количества пиноцитозных пузырьков в цитоплазме эндотелиальных клеток. На фоне снижения плотности матрикса цитоплазмы клеток, вакуолизации эндоплазматического ретикулума и уменьшения количества рибосом выявляется скопление митохондрий с признаками выраженного набухания и пластинчатого преобразования, а также количественное нарастание телец типа миэлиноподобных фигур. В ядрах клеток отмечается просветление нуклеоплазмы, конгломерирование

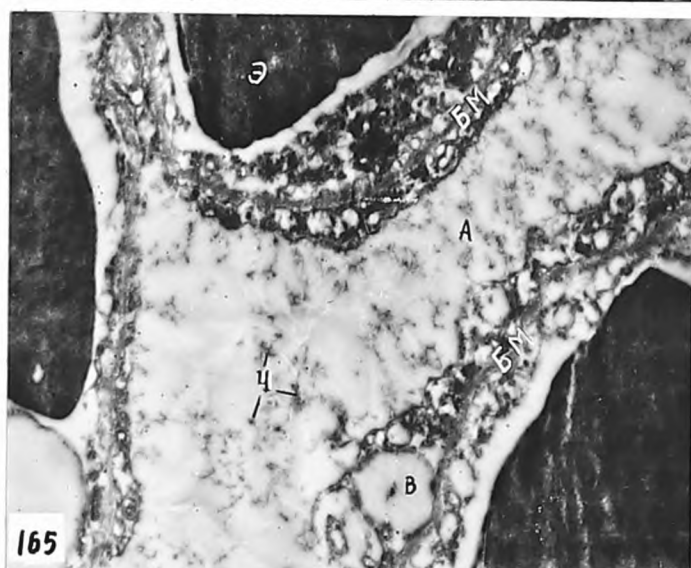
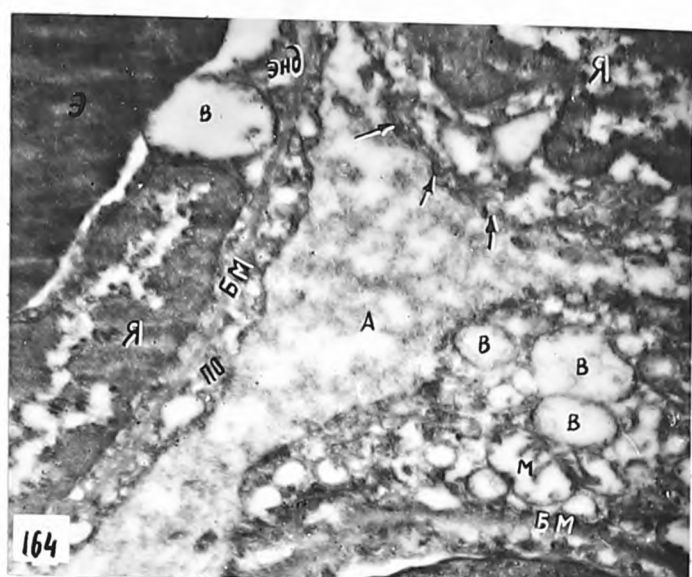


Рис. 164 и 165. Резко деструктивный характер повреждения ультраструктурной организации воздушно-кровяного барьера в легких новорожденных, погибших от асфиксии и исследованных через 12-16 часов после смерти; х 13000.

(описание в тексте)

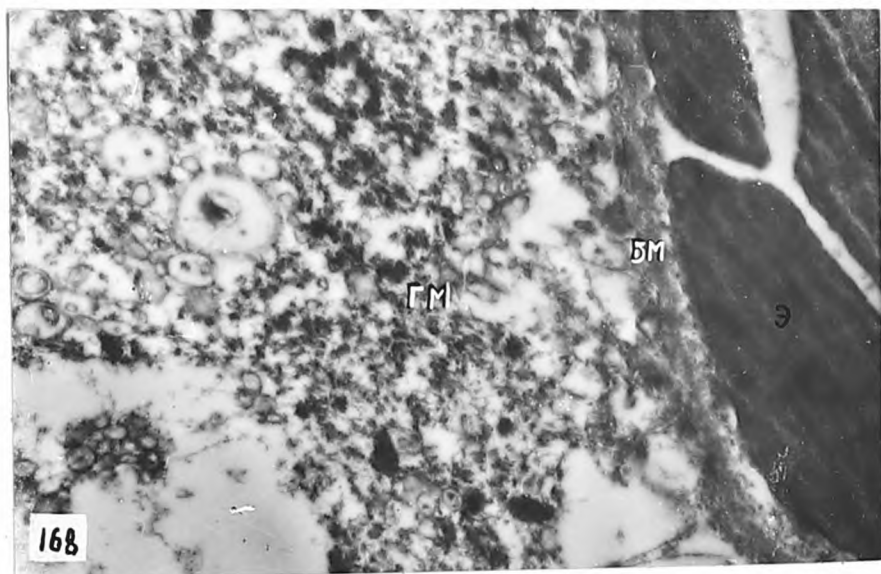
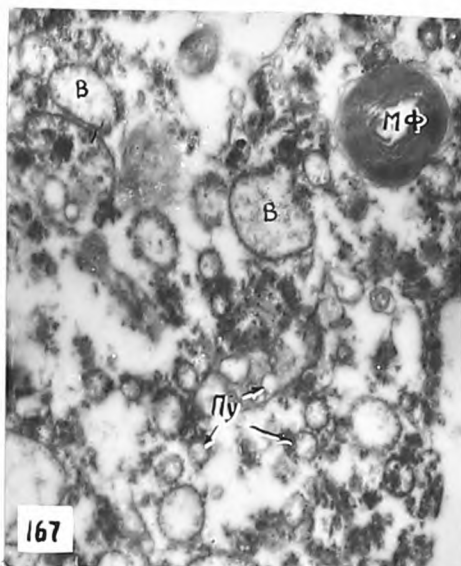


Рис. 166. В участке гиалиновой мембраны преобладает мелкозернистый материал различной плотности; х 10000.

Рис. 167. Мелкие вакуоли (В) и миэлиноподобная фигура в гиалиновой мембране; х 13000.

Рис. 168. Полное разрушение и включение в состав гиалиновой мембраны (ГМ), подлежащего слоя альвеолярной выстилки; х 13000.

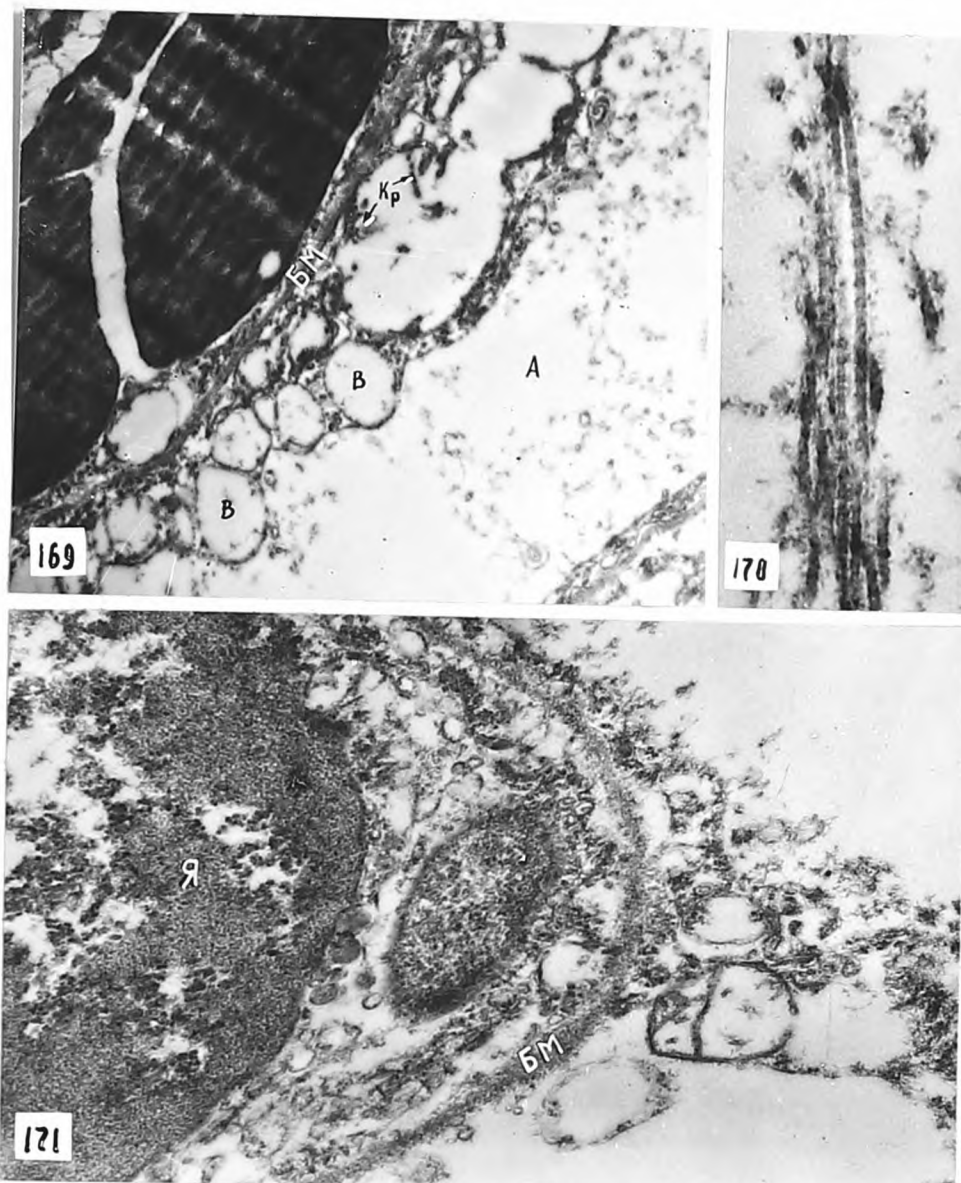


Рис. 169. Сплошная вакуолизация капиллярной стенки, обращенной в просвет альвеолы. Стрелками обозначены обрывки крист и плотных комочков в запустевших митохондриях; х 13000.

Рис. 170. Первичные коллагеновые фибриллы с сохранившейся поперечной исчерченностью; х 25000 (12 часов после смерти).

Рис. 171. Деструктивный характер изменений в участке альвеолярной стенки в легком новорожденного; 25000 (24 часа после смерти)

(описание в тексте).

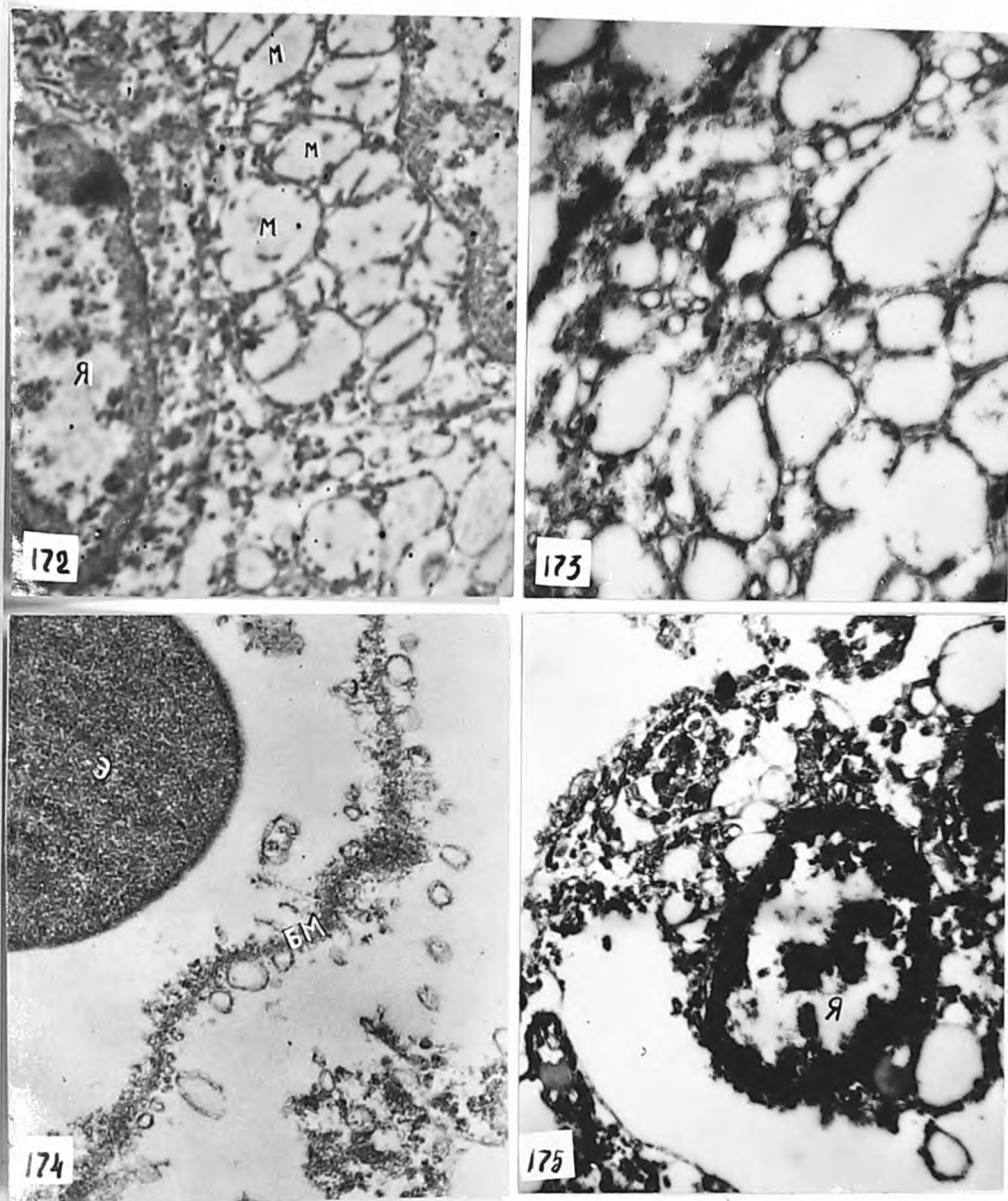


Рис. 172-175. Полная ультраструктурная дезорганизация легочной ткани в легких новорожденных детей, погибших от асфиксии и исследованных через 36-72 часа после смерти; увеличения рис. соответственно: x 10000; x 13000; x 10000 и x 6000.

Я-ядро; М-вакуольно-измененные митохондрии, в которых видны обрывки крист и плотные комочки (показано стрелками); БМ- базальная мембрана; Э- эритроцит; А- просвет альвеола.

и уплотнение хроматина под ядерной оболочкой.

При выраженных отечных явлениях в альвеолах и альвеолярных ходах встречаются гиалиновые мембраны, структурной основой которых является мелкозернистый материал типа плазменного белка, фрагменты разрушенных мембранных систем клеток, обломки ядер и эритроцитов. Прямой контакт гиалиновых мембран с капиллярной стенкой ведет к полному разрушению альвеолярного эпителия. Базальная мембрана и эндотелий изменяются в меньшей степени.

В легких, исследованных через 6-8 часов после смерти, выше отмеченные изменения нарастают. Спустя 12-18 часов после смерти изменения принимают резко деструктивный характер. К этому времени, независимо от характера и тяжести патологии беременности и родов у матерей и умерших новорожденных, степени доношенности и продолжительности жизни ребенка, частоты и продолжительности приступов асфиксии, в легких выявляется однотипный характер изменения ультраструктурной организации клеток. Изменения проявляются в полной потере электронной плотности нуклеоплазмы и матрикса цитоплазмы клеток. Рибосомы исчезают, митохондрий запустевают, с образованием огромных вакуолей и полостей. В основе вакуолизации лежит процесс слияния мелких пузырьков и вакуолизированных элементов эндоплазматического ретикулума с набухшими и запустевшими митохондриями.

Деструктивный характер субмикроскопических изменений, обнаруживаемый в легких новорожденных спустя 12-18 часов после смерти, не позволяет сказать, являются ли данные изменения следствием прижизненного гипоксического состояния или следствием развившихся посмертных изменений. Поэтому, чтобы избежать дополнительного алтерерирующего воздействия процессов аутолиза на гипоксически изме-

ненную ультраструктурную организацию клеток, необходимо исследовать легкие не позднее 3 часов после смерти. Однако, при наличии патологии беременности и родов, обуславливающей кислородное голодание плода, клинических признаков внутриутробной асфиксии, при многократных постнатальных приступах асфиксии необходимо исследовать легкие в первые 1-2 часа после смерти, так как вследствие нарастающей тяжелой степени гипоксии, межклеточного и внутриклеточного отека разрушение ультраструктуры клеток протекает быстрее, приобретая деструктивный характер. При более позднем вскрытии развившиеся после смерти процессы аутолиза "наслаиваются" и затуманивают субмикроскопические изменения в ткани легкого, вызванные острой гипоксией.

ГЛАВА 5

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

При электронномикроскопическом исследовании легких крысят первых и вторых суток жизни в альвеолах выявлен непрерывный слой эпителиальной выстилки, состоящей в основном из клеток типа I и типа II. Непрерывность обусловлена длинными - до 10-15 мк (, 1959 -цитоплазматическими отростками альвеолярных клеток типа I. Эти отростки полностью покрывают выступающие в просвет альвеол петли капилляров и доходят до соседних клеток.

Непрерывность выстилки альвеол не синцитиального типа: между соприкасающимися клетками всегда видна межклеточная граница, образованная двумя плазматическими мембранами и весьма узким промежуточным пространством, сообщаемым с наружной средой и с базальной мембраной выстилки. Подобный тип соединения альвеолярных клеток отмечен не только в легких крыс (*Bagmann* и *Knoop* , 1956; *Reidbozd* и *Spitz* 1966; В.Ф.Салов, 1967), но и в легких различных животных (*Low* , 1952-1955; *Schulz*, 1959; *Hizomoto Usuda* 1958; А.Поликар и Ш.Бо, 1962; Х.С.Нугманова и А.Э. Шкутин, 1967), а также в легких новорожденных детей и взрослого человека (*Campiche et al*, 1961; 1962; 1964; *Matsumura*, 1962; *Groniowski*, 1964; *Direztie et al*, 1964). Гарбински же (1967) полагает, что "респираторный эпителий состоит из клеточного синцития, неимеющего клеточных границ", не приводя, однако, фактических доказательств подобному утверждению.

В альвеолярных клетках типа II, наряду с митохондриями типичного строения, нами выявлены специфические тельца, не отмеченные в сообщениях других авторов. Характерной особенностью этих телец яв-

ляется наличие в них большого количества извилистых и параллельно идущих нитевидных пластинок или вещества, напоминающего клубок войлока

Эти тельца заметно отличаются от так называемых пластинчатых включений, описанных в данных клетках рядом других авторов (*Schlipköter*, 1954; *Kazet*, 1956; *Campiche*, 1960; *Balis*, 1964; *Kikkawa et al* 1965; 1968; *Leeson*, 1966 и др.). Они вместе с пластинчатыми включениями прослеживаются на различных этапах выхода в просвет альвеол и количественно увеличиваются при гипоксических состояниях, что позволяет предположительно рассматривать эти тельца как разновидность пластинчатых включений. Последние ряд авторов рассматривает как возможные структуры, с которыми связано поверхностно активное вещество - сурфактант, изменяющее поверхностное натяжение на стенках альвеолы (*Woodside* и *Dalton*, 1958; *Avez*, 1962; *Klaus*, 1965; *Kikkawa et al*, 1965, 1968; Е.Н.Нестеров, 1967 и др.).

Наряду с вышеописанными двумя типами альвеолярных клеток в выстилке альвеол выявлены немногочисленные клетки, ультраструктурные особенности которых, в сопоставлении с данными литературы, позволяют отнести их к так называемым свободным альвеолярным клеткам (*Policaud et al*, 1959). Наши данные об ультраструктуре этих клеток дают основание присоединиться к мнению авторов, рассматривающих их, как клетки, обладающие выраженными фагоцитарными способностями (*Policaud et al*, 1955; 1956; 1959; *Low*, 1957; *Higamoto*, 1957; *Low, Sampaio*, 1957; *Richter*, 1957; А.Поликар и Ш.Бо, 1962).

При использованных разрешениях электронных микроскопов (8-10А) в альвеолярных перегородках нами не обнаружены какие-

либо отверстия типа пор Кона. На нашем материале мы не выявили также вокруг альвеол наличия гладких мышечных клеток. Нам не удалось, в отличие от *Meessen* и *Schulz* (1957), выявить щелевидных отверстий ни в эндотелиальной выстилке капилляров, ни в базальных мембранах в области воздушно-кровеносного барьера легких.

Выявленные в легких крысят ультраструктурные особенности ядер различных клеток, а именно наличие пор в ядерной мембране, расширение перинуклеарного пространства, соединяющегося иногда с канальцами и цистернами эндоплазматического ретикулума, позволяют присоединиться к мнению исследователей, допускающих возможность обмена веществ не только между ядром и цитоплазмой, но и внеклеточной средой (*Watson* 1955; *Wischmitzer*, 1961; А.Мирский, 1962; *Mizsky* и *Osawa*, 1961; А.Мирский и Осава, 1963; В.Я.Бродский, 1965; И.А.Алов, 1965; Э де Робертис, 1967).

Изучение динамики посмертных изменений в легких крысят и плодов человека позволило выявить довольно выраженную устойчивость многих ультраструктур клеток легочной ткани к аутолизу в первые 2-3 часа после смерти, за исключением ядер клеток. В последних уже через 15-30 минут после смерти выявляются просветление нуклеоплазмы и агрегирование зерен хроматина. Эти изменения сравнительно быстро нарастают, тогда как ядерные мембраны сохраняют свою целостность в течение 6-12 часов.

Аналогичные данные получены *Hibbs* и *Black* (1963) при изучении посмертных изменений в миокарде крыс.

Такой лабильный органоид клетки, как митохондрии, сохраняют свое типичное строение в течение 1-2 часов после смерти. Однако тщательное изучение электронных микрофотографий (получен-

ных с легких, кусочки которых были зафиксированы в глутаральдегиде и залиты в араалдит) позволило выявить, что уже через 30 минут после смерти уменьшаются, а в дальнейшем исчезают плотные зернышки в матриксе митохондрий. *Trump et al* (1965) рассматривает потерю зернышек матрикса митохондрий как понижение или отсутствие фосфорелирования в данных митохондриях.

В динамике изменения митохондрий характерной особенностью является появление через 3-6 часов после смерти единичных, очень плотных комочков, расположенных чаще по периферии митохондрий. В дальнейшем, даже при полном запустевании и превращении митохондрий в вакуоли, эти комочки всегда видны под оболочкой митохондрий.

Устойчивость митохондрий к аутолизу отмечена и другими исследователями в клетках миокарда крыс (*Hibbs* и *Black*, 1963), в секционном материале почек и печени человека (*Achworth* и *Stembbridge*, 1965), в клетках печени мыши (*Trump et al*, 1965), в эпителиальных клетках почечных клубочков крыс (*Cook et al*, 1965), в различных тканях и органах человека (*А.И.Струков*, 1967; *Perier*, 1968).

Эндоплазматический ретикулум, комплекс Гольджи менее устойчивы, чем митохондрии. Однако и эти структуры в течение первого часа после смерти выглядели практически интактными. Только через 2-3 часа в них появляется, а затем нарастает везикуляция и вакуолизация канальцев и цистерн.

Изменение митохондрий и эндоплазматического ретикулума происходило на фоне прогрессирующего снижения электронной плотности матрикса цитоплазмы, уменьшения количества рибосом и лизосом. Присутствие в клетках лизосом с четкой оболочкой через

6 часов после смерти с достоверностью нами не установлено, а через 12 часов они полностью отсутствовали. Наши данные совпадают с данными А.И.Струкова (1967).

Наиболее устойчивы к посмертным изменениям мерцательные реснички клеток в выстилке бронхиол, ядерные оболочки и базальные мембраны, фибриллы волокон коллагена, ретикулина и эластические волокна. Все эти образования довольно хорошо дифференцируются спустя 12-24 часа после смерти.

Необходимо подчеркнуть, что все изменения отдельных ультраструктур клеток развивались в клетках, форма и размер которых в течение 6-12 часов после смерти практически не изменялись. Этим подтверждаются данные световой микроскопии о том, что увеличение размеров клеток для трупных изменений не характерно (А.И.Струков, 1967).

Полученные нами данные об устойчивости ультраструктур клеток к посмертным изменениям находят подтверждение в работах авторов, которые развитие аутолиза в клетках изучали одновременно электронномикроскопическими, биохимическими и гистохимическими методами (*Begenhom et al*, 1955; *Rump et al*, 1963; 1965; *Ito*, 1961, 1965; *Goldblatt et al*, 1963).

Таким образом, полученные нами данные о динамике спонтанных посмертных изменений в легких в сопоставлении с данными авторов, изучавших развитие аутолиза в других органах, позволяют прийти к выводу, что электронномикроскопическое исследование легких в первые 2-3 часа после смерти вполне возможно.

При изучении субмикроскопических изменений в легких плодов и новорожденных крысят при острой гипоксии обнаружена высокая чувствительность органелл клеток к кислородной недостаточности

Так, при внутриутробной острой гипоксии уже через 15 минут после лигирования пуповины плода можно было наблюдать ответную реакцию альвеолярных клеток. Она проявлялась в группировании митохондрий, пластинчатых и других включений в периферических зонах клеток. В дальнейшем, по мере нарастания кислородной недостаточности, нарушение ультраструктурной организации митохондрий и других органелл протекает на фоне прогрессивно увеличивающегося внутриклеточного отека. Последний проявляется в вакуолизации эндоплазматического ретикулума, просветлении матрикса цитоплазмы клеток, в уменьшении плотности нуклеоплазмы и расширении перинуклеарных пространств, а также в появлении большого количества пиноцитозных пузырьков и вакуолей в эндотелии капилляров, в набухании и снижении плотности базальных мембран альвеолярной и эндотелиальной выстилок.

Нарастание количества пиноцитозных пузырьков и мелких вакуолей под плазматической мембраной эндотелиальных клеток, а затем распространение их по всей толще эндотелия - вплоть до базальной мембраны и за базальную мембрану, мы рассматриваем как выражение повышенной проницаемости капиллярной стенки, которое обусловлено, вероятно, переносом жидкости с помощью пиноцитозных пузырьков. Появление же мелких, а затем больших вакуолей в эндотелии происходит, по-видимому, путем слияния между собой пиноцитозных пузырьков. Эти данные согласуются с результатами исследования проницаемости капиллярной стенки в различных органах животных (*Palade, 1953; Bennet, 1956; де Робертис, В.Новинский и Ф.Сазс, 1962, 1967; Е.И.Хейсин, 1965*).

По нашим данным при внутриутробной острой гипоксии повреждение митохондрий протекает в двух направлениях: в виде типич -

ного набухания и в виде "пластинчатого преобразования" (*Schulz*, 1959). Характерно, что убыль числа митохондрий в клетке, сопровождается количественным нарастанием липидных капель в альвеолярных и септальных клетках. Измененные митохондрии, включения типа пластинчатых и войлокообразных телец уже через 25 минут после пережатия пуповины обнаруживались в просвете альвеол.

Таким образом, можно предположить, что в процессе родов, то-есть при переходе плода к внеутробной жизни, когда в короткий промежуток времени происходят существенные изменения в кровообращении плода и меняется ход основных обменных процессов в клетках, отмеченный при внутриутробной гипоксии, деструктивный характер изменений в воздушно-кровеносном барьере легких затруднит достаточный перенос кислорода в капиллярное русло легких. Аналогичной точки зрения придерживается Л.М.Крылов (1965, 1968).

Сопоставление вышеописанных изменений в легких крысиных плодов с изменениями в легких новорожденных крысят при острой гипоксии, вызванной путем помещения их в замкнутое пространство и в барокамеру, позволило выявить однотипный характер нарушения ультраструктурной организации клеток альвеолярной и эндотелиальной выстилок, а также септальных клеток.

Характерно, что как при внутриутробной гипоксии, так и при гипоксии, вызванной пребыванием крысят в герметических боксах (до 3-х часов) и в барокамере (до 5 часов) можно было наблюдать определенный параллелизм между убылью митохондрий и нарастанием количества липидных капель в гипоксических клетках. Аналогичное явление отмечено рядом авторов в ишемизированном миокарде животных (*Hoelscher et al*, 1961; *Bzyant et al*, 1958; А.И.Струков и К.С. Митин, 1967; В.В.Глаголева и Ю.С.Чечулин, 1968) и др.

По мнению В.В.Глаголевой и Ю.С.Чечулина аккумуляция жира в ишемизированном миокарде связана с дефицитом в мышечных клетках митохондриальных ферментов, обеспечивающих его окисление в норме.

Выявленный нами однотипный характер изменений митохондрий — их постепенное набухание, независимо от способа, каким была вызвана острая гипоксия, наблюдался многими авторами в различных органах как при острой гипоксии (*Caulfield, Klionsky, 1959; Schulz, 1959; Roche и Horst, 1963; Sulkin и Sulkin, 1965; А.И.Струков и К.С.Митин, 1967; В.В.Глаголева и Ю.С.Чечулин, 1968*), так и при тепловом (Д.С.Саркисов и Б.В.Втюрин, 1967), радиационном и других альтертирующих воздействиях на клетку (*Hunter et al, 1959; Я.А.Винников с соавторами, 1960; Rouiller, 1960; В.Ф.Машанский, 1961, 1964; Lehninger, 1962; А.И.Струков, 1967*).

Однако, наряду с митохондриями, претерпевшими изменения по типу набухания, в альвеолярных и других клетках можно было наблюдать митохондрии с многочисленными пластинчатообразными кристами, заполняющими все внутреннее пространство митохондрии (см. рис. 83, 91). Такие митохондрии были отмечены нами в легких с посмертными изменениями (см.рис.20), а также в легких крысят в контрольной группе. Это обстоятельство говорит, вероятно, за постоянное присутствие подобных митохондрий в клетках легочной ткани.

Аналогичный тип митохондрий описал *Schulz (1959)* в легких крысиного эмбриона, в легких взрослых крыс как в норме, так и при гипоксии. Он отмечает, что в легких крысиного эмбриона можно было наблюдать многочисленные переходные формы между обычными митохондриями и "пластинчато преобразованными" митохондриями.

ми. На нашем материале с достоверностью не удалось обнаружить четких переходных форм, на основании которых можно было бы предполагать, что митохондрии с многочисленными поперечно расположенными кристами являются следствием пластинчатого преобразования обычных митохондрий.

По мнению *Schulz* (1959) в основе пластинчатого преобразования первоначально лежит процесс набухания внутреннего осмиофобного промежутка крист. Затем набухшие кристы соприкасаются между собой и их осмиофильные наружные слои сливаются, образуя искривленные пластинки. Если допустить подобный механизм, то невольно возникает вопрос, каким путем появляется обилие пластинок в одной и той же митохондрии, если при склеивании крист фактически имеет место уменьшение их количества?

Meessen (1948, 1960) и *Schulz* (1959) появление и количественное нарастание пластинчато преобразованных митохондрий в альвеолярных клетках рассматривают как результат непосредственного воздействия углекислоты на клетки. Если принять это положение, то в условиях наших опытов в легких крысят, испытывавших влияние быстро нарастающей гиперкапнии, мы должны были увидеть резкое увеличение количества пластинчато преобразованных митохондрий. Однако этого мы не отметили, даже через 3 часа от начала опыта, когда большинство крысят погибло. Характерно, что после пребывания крысят в барокамере в течение 3-5 часов на "высоте" 10-13000 м, то-есть в условиях исключаяющих накопление углекислоты в барокамере, мы обнаружили, примерно, такое же количество пластинчато преобразованных митохондрий, как при гипоксии, вызванной помещением крысят в боксы. Наши данные находят подтверждение в опытах *Büchchel* с соавторами

(1962), которые не отметили увеличения количества преобразованных митохондрий в альвеолярных клетках легкого собаки, дышавшей в течение двух часов воздушной смесью, содержащей 70% углекислоты. По-видимому, в основе пластинчатого преобразования митохондрий лежат другие причины, а не воздействие углекислоты.

Учитывая, что на электронных микрофотографиях пластинчатые преобразованные митохондрии видны были в легких контрольных крысят, в легких с посмертными изменениями, а также при острой гипоксии, мы склонны рассматривать их как митохондрии, находящиеся в одной из стадий дегенеративного изменения. За такое предположение говорит факт выявления весьма выраженного полиморфизма изменений формы и структуры этих митохондрий.

Отмеченный полиморфизм внешнего вида митохондрий в нормальной клетке и неравномерность поражения их при гипоксии современными исследователями рассматривается как следствие динамической пластичности формы и структуры митохондрий, свидетельствующее о чрезвычайной их лабильности при нормальном физиологическом состоянии клетки (*Novikoff, 1961; Trump et al, 1965; В.Ф.Машанский, 1965; К.С.Митин, 1965, 1967; И.А.Алов с соавторами, 1966; А.Ленинджер, 1966; Д.Е.Саркисов и Б.В.Вторин, 1967; Э.де Робертис с соавторами, 1967; В.В.Глаголева и Ю.С.Чечулин, 1968*).

В начальных периодах острой гипоксии в воздушно-кровеносном барьере легких можно было наблюдать незначительное количество пиноцитозных пузырьков в эндотелии капилляров и в пластинчатых отростках альвеолярных клеток типа I. И лишь через 2-3 часа выявляется резкая вакуолизация альвеолярной и эндотелиаль-

ной выстилкой, набухание базальных и разрывы плазматических мембран клеток, с появлением в просвете альвеол мелкозернистого вещества с плотностью и размером частиц типа плазменного белка. Наблюдаемую в конце 3 часа гипоксии в септальных клетках вакуолизацию эндоплазматического ретикулума, просветление нуклеоплазмы с расширением перинуклеарных пространств ядерной оболочки, резкое снижение плотности матрикса цитоплазмы клеток, а также нечеткий вид и потерю поперечной исчерченности в первичных фибриллах волокон коллагена и ретикулина, мы рассматриваем, как проявление развивающегося отека в строме межальвеолярных перегородок. За это говорит, по-видимому, и тот факт, что по мере нарастания тяжести гипоксии нами было отмечено появление, а затем количественное увеличение в септальных и эндотелиальных клетках вакуолей различного размера с четкой двойной оболочкой.

Расположение этих вакуолей в разных участках клеток и по обе стороны от базальной мембраны капилляра, в сочетании с вакуолеобразными и пальцевидными ответвлениями от базальной мембраны (см. рис. 118), мы рассматриваем как выражение усиленного транспорта жидкости с помощью данных вакуолей. Вполне возможно, что подобный транспорт происходит в обоих направлениях от базальной мембраны капилляра. В цитированных выше работах по изучению ультраструктуры легких при гипоксии мы не встретили описания вакуолей с двойной оболочкой при отечных явлениях в легких экспериментальных животных.

На фоне выше отмеченных отечных явлений в клетках, во внеклеточных пространствах, а также в просвете альвеол можно

было видеть различное количество структур, напоминающих миэлиноподобные фигуры. Они часто обнаруживались в непосредственной близости или в соприкосновении с пластинчато преобразованными митохондриями и среди распадающихся митохондрий (см. рис.122,124). Их можно было видеть также в тесном соприкосновении с наружным листком ядерной оболочки, с расширенными канальцами эндоплазматического ретикулума. Подобное расположение миэлиноподобных телец позволяет высказать предположение о их происхождении из деструктивно изменяющихся митохондрий и, вероятно, в большей степени из пластинчато преобразованных митохондрий. Не исключена возможность образования этих телец из стенок расширенных канальцев и цистерн эндоплазматического ретикулума, которые, многократно соединяясь с наружными мембранами запустевших митохондрий, а также с отслаивающимся наружными листками ядерной оболочки могут, по-видимому, образовать концентрически закрученные волокна на подобие миэлиновой фигуры. В.В.Глаголева и Ю.С. Чечулин (1968) указывают, что при экспериментальном инфаркте миокарда в некоторых мышечных волокнах дегенеративные изменения митохондрий носят характер образования ими миэлиноподобных телец. К сожалению, в литературе по посвященной электронномикроскопическому изучению легких животных и человека при гипоксических состояниях, вопрос о наличии и происхождении миэлиноподобных фигур не освещается. Между тем, как показали наши исследования, появление и количественное нарастание этих фигур является, вероятно, признаком глубоких необратимых изменений в ультраструктурной организации легочной ткани при острой гипоксии.

При сопоставлении субмикроскопических изменений в легких крысят при острой гипоксии с данными литературы (Schulz, 1957, 1959; Büchel et al, 1962; Reidbord et al 1966 и др.) мы пришли к выводу, что в одни и те же промежутки времени гипоксического состояния изменения в легких крысят менее выражены, чем в легких взрослых крыс. По-видимому, новорожденные крысята более выносливы к кислородному голоданию, о чем говорят данные ряда авторов, исследовавших возрастную реакцию подопытных животных на кислородную недостаточность и изучавших изменения в легких и других органах под световым микроскопом (В.М. Карасик, 1940; Ю.М. Лазовский, 1941; Н.А. Лауэр, 1949, А.З. Колчинская, 1959; Ю.Ф. Домбровская с соавторами, 1959, 1961; А.Н. Домбровский и А.А. Рогов, 1965 и др.).

Изучение динамики посмертных изменений в легких крысят, предварительно перенесших острую гипоксию, позволило выявить следующее.

Острая гипоксия, независимо от способа, каким она была получена, не вызывает немедленной перестройки ультраструктурной организации альвеолярных и других клеток легочной ткани. Изменения развиваются постепенно, проявляясь в первую очередь в ультраструктурной дезорганизации митохондрий, эндоплазматического ретикулума, затем в ядрах и плазматических мембранах клеток и в меньшей степени в базальных мембранах и фибриллярных структурах межалвеолярной перегородки.

Изменения ультраструктур клеток альвеолярной и эндотелиальной выстилок, а также септальных клеток при острой гипоксии развиваются быстрее, чем при аутолизе. Это обстоятельство по -

зволюет, при определенных соотношениях длительности гипоксии и посмертных изменений (см. гл. III, стр. 163-174) дифференцировать прижизненные изменения от посмертных.

Полученные нами данные мы, к сожалению, не можем сравнивать с результатами исследований других авторов, так как работ, посвященных этому вопросу мы не встретили ни в отечественной, ни в зарубежной литературе. Некоторые авторы (*Bryant et al*, 1958; *Caulfield* и *Klionsky*, 1959; *Heinz, Azno*, 1963; В.В. Глаголева и Ю.С. Чечулин, 1968) указывают на более быстрое появление изменений ультраструктурной организации митохондрий и других органелл клеток в ишемизированном миокарде, сравнительно с их изменением при аутолизе. Необходимо подчеркнуть, что данные авторы сравнивали изменения при ишемии в миокарде одного животного с изменениями при аутолизе в миокарде другого животного, то есть изолированно. Однако, как показали наши исследования, сочетанное воздействие гипоксии и аутолиза ведет к более выраженному изменению ультраструктурной организации клеток, чем влияние одной гипоксии или только аутолиза. Например, в легких крыс после острой гипоксии посмертные изменения длительностью свыше 3 часов вызывают дополнительное снижение электронной плотности матрикса цитоплазмы клеток, уменьшение плотности нуклеоплазмы и увеличение комкования зерен хроматина. Дальнейшее же "наслаивание" посмертных изменений вызывает еще большее дополнительное альтерирующее воздействие на ультраструктуру клеток, что затрудняет, а затем и полностью исключает возможность дифференцировки прижизненных изменений от посмертных.

По мнению В.В. Жарова (1967) при аутолизе нарушаются процессы окислительного фосфорилирования, синтеза АТФ, кофер -

ментов и других биологически важных веществ. По-видимому, эти процессы значительно ускоряются в клетках, предварительно подвергнутых воздействию кислородной недостаточности.

Полученные нами экспериментальные данные позволили прийти к заключению, что посмертные изменения длительностью в 3-6 часов не могут служить препятствием для электронно-микроскопического выявления прижизненных изменений в крысиных легких, вызванных гипоксией. Они также позволяют прийти к выводу о возможности электронномикроскопического исследования легких новорожденных детей в первые часы после смерти.

Проведенное нами исследование ультраструктуры легких плодов обнаружило у 28 недельных плодов отчетливую сформированность альвеоло-капиллярных структур, их готовность к переходу к внеутробному существованию. Ультраструктура воздушно-кровеносного барьера легких у 28 недельного плода подобна ультраструктуре этого барьера в легких доношенных новорожденных. Эти данные подтверждают данные световой микроскопии о сформированности отдельных структур в ткани у 28 недельного плода. (*Dubgeul*, 1936; В.И.Пузик, 1953; *Loosli* и *Potter*, 1955; *Sozokin*, 1960; О.Я.Кауфман, 1965; М.В.Полуяхтова, 1968 и др.).

Необходимо подчеркнуть, что при электронномикроскопическом исследовании легких плодов (как и легких новорожденных), мы не выявили в межалвеолярных перегородках сквозных отверстий типа пор Кона. Мы не обнаружили также вокруг альвеол в межалвеолярной перегородке мышечных волокон и лимфатических капилляров. В до-
ступной литературе по ультраструктуре легких плодов и новорожденных детей мы также не встретили указания на наличие подобных

структур и образований.

Выявленная нами ультраструктура легких недоношенных и доношенных новорожденных детей соответствует ультраструктуре легких 28 недельного плода. Наши данные совпадают с заключениями авторов, изучавших субмикроскопическое строение легких новорожденных, погибших при так называемом синдроме дыхательных расстройств (*Neustein и Bzeemen, 1956; Bzeemen, Neustein, 1957; Bommer, 1961; Campiche с соавторами, 1961, 1962, 1963; Gzonowski, 1963, 1964; Balis et al, 1966*). Однако авторы, описывая характер изменений ультраструктур клеток, вызванных прижизненной асфиксией, не затрагивают вопроса о влиянии аутолиза на сохранность ультраструктурной организации легочной ткани, в случаях отсроченной ее фиксации.

По нашим данным, в легких новорожденных детей погибших в асфиксии и исследованных через 3 часа после смерти уже обнаруживаются выраженные изменения ультраструктурной организации клеток легочной ткани. Они заключаются в резком снижении плотности матрикса цитоплазмы клеток, просветлении нуклеоплазмы и выраженном агрегировании хроматина в ядрах клеток, в резком набухании и запусении митохондрий, вакуолизации эндоплазматического ретикулума, уменьшении лизосом, рибосом и пластинчатых включений в альвеолярных клетках типа II. Подобной дезорганизации ультраструктур клеток не отмечено в легких 28 недельных нормально развивающихся плодов, полученных путем операции кесаревого сечения по поводу психического заболевания беременной и исследованных также через 3 часа после смерти. Это обстоятельство позволяет рассматривать данные изменения как следствие прижизненного асфиктического состояния. За это говорит и

тот факт, что в воздушно-кровеносном барьере легких отмечалась выраженная вакуолизация и наличие пиноцитозных пузырьков в набухшем эндотелии капилляров и пластинчатых отростках альвеолярных клеток. Подобные изменения мы рассматриваем как проявление при гипоксии выраженных отечных явлений в области капиллярной стенки.

Следует, однако, отметить, что резкое снижение плотности матрикса митохондрий, нуклеоплазмы и матрикса цитоплазмы клеток в легких, исследованных через 3 часа после смерти не характерно, как это показали наши экспериментальные исследования, даже для гипоксии, продолжительностью в 1-2 часа. По-видимому, резкое снижение электронной плотности является не только следствием прижизненной асфиксии, но и следствием "наслаивания", дополнительного альтерирующего воздействия развивающихся процессов аутолиза. Это предположение подкрепляется тем фактом, что в легких новорожденных, погибших в асфиксии и исследованных через 6-8 часов после смерти, можно было наблюдать сильное просветление, фактически полную потерю электронной плотности матрикса митохондрий и матрикса цитоплазмы клеток. Такое резкое снижение электронной плотности, наряду с деструктивным характером изменения органелл альвеолярных и других клеток, не было отмечено нами при спонтанных посмертных изменениях в легких плодов человека спустя 6 часов после смерти. Не отметили подобной степени нарушения ультраструктурной организации клеток в первые 2-7 часов после смерти *Żgoniowski, Biczyskova* (1962) в легких новорожденных детей.

Таким образом, субмикроскопические изменения в легких

новорожденных, вызванные прогрессирующей асфиксией резко усиливаются аутолизом уже в первые 3-6 часов после смерти. При более поздних сроках вскрытия (через 8-12 часов) ультраструктурная дезорганизация клеток легочной ткани настолько глубока, что не позволяет сказать: являются ли данные изменения следствием прижизненного асфиктического состояния или результатом развившегося аутолиза. Поэтому в целях наиболее полноценного электронномикроскопического изучения легких новорожденных детей, погибших в асфиксии, необходимо производить вскрытие трупов в возможно короткие сроки после смерти. Обобщая результаты собственных исследований и учитывая данные литературы, мы рекомендуем производить вскрытие не позднее 1-3 часов после смерти.

Мы подвергли обсуждению не весь фактический материал данной работы. Это обусловлено желанием не повторять сведений, имеющихся в литературе по электронномикроскопическому исследованию легких новорожденных детей и лабораторных животных при гипоксических состояниях.

ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ

1. Электронная микроскопия до последнего времени не используется при исследовании легких новорожденных детей, погибших от асфиксии, из-за отсутствия достаточных сведений об ультраструктурных изменениях в ткани легкого, вызванных посмертным аутолизом.

2. Результаты наших исследований показали, что общая ультраструктурная организация клеток ткани легкого сохраняется до трех часов после смерти.

3. Посмертные изменения в легких прежде всего обнаруживаются в ядрах клеток. Они выявляются через 15 минут после смерти и проявляются в снижении электронной плотности нуклеоплазмы и агрегировании зерен хроматина.

Характерными признаками развившихся посмертных изменений в ткани легкого являются полное просветление нуклеоплазмы и уплотнение хроматина под ядерной оболочкой, присутствие в деструктивно измененных митохондриях специфических осmioфильных комочков, а также наличие в клетках и межклеточных пространствах миэлиноподобных фигур.

4. Острая гипоксия в первую очередь вызывает изменения в ультраструктурной организации митохондрий.

По мере нарастания длительности и тяжести гипоксии нарушается ультраструктура эндоплазматического ретикулума, лизосом, пластинчатых телец, рибосом, затем появляются и количественно нарастают в клетках и в просвете воздухоносных путей миэлиноподобные

добные фигуры и, наконец, изменяется ультраструктура ядра. Эти изменения протекают на фоне развития внутриклеточного и межклеточного отека и повышенной проницаемости стенки легочных капилляров.

5. Ультраструктурной основой повышения проницаемости воздушно-кровеносного барьера легких при острой гипоксии является количественное нарастание пиноцитозных пузырьков и вакуолей в цитоплазме эндотелия и пластинчатых отростков альвеолярных клеток типа I, снижение электронной плотности и образование вакуолеподобных ответвлений у базальных мембран, разрывы плазматических мембран клеток, скопление в просвете альвеол мелкозернистого материала, состоящего из частиц той же плотности и размеров, что и в просвете капилляров.

6. В гипоксически измененных клетках ткани легкого посмертный аутолиз быстро нарастает по степени своей выраженности. Он проявляется в резкой потере плотности нуклеоплазмы, матрикса митохондрий и матрикса цитоплазмы, в вакуолизации эндоплазматического ретикулума, а затем в полной деструкции мембранных систем клеток.

7. В легких новорожденных детей, погибших от асфиксии и исследованных через 3 часа после смерти, гипоксический характер повреждения ультраструктур клеток сохраняется.

При более поздних сроках исследования - через 6 и более часов, аутолитические повреждения ультраструктур клеток стирают, затушевывают изменения от прижизненной гипоксии.

8. Учитывая быстрое развитие посмертного аутолиза в гипок -

сически измененных клетках электронномикроскопическое исследование легких новорожденных детей, погибших от асфиксии, следует производить не позднее трех часов после смерти. При тяжелой и продолжительной гипоксии—еще раньше, до одного—двух часов.

9. Полученные экспериментальные и секционные данные позволяют использовать электронную микроскопию для изучения ультра — структуры легких, что дает возможность понять патогенез патологических процессов в легких у новорожденных детей.

В заключение считаю своим приятным долгом выразить глубокую благодарность научному руководителю доктору медицинских наук, профессору Лидии Ивановне ЧЕРНЫШЕВОЙ за постоянное руководство и большую помощь в работе, а также благодарность сотрудникам патогистологической лаборатории и всего института ОММ за повседневную помощь, оказанную при выполнении данной работы.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. АГАРОНОВ А.М. 1950. Бережный метод оживления при асфиксии новорожденных. Врачебное дело, 5, стр. 442-444.
2. АГНИСЕНКО В.В. 1966. Сравнительная оценка некоторых методов оживления новорожденных, родившихся в асфиксии. Акушерство и гинекология, № 1, стр.23-26.
3. АЛОВ И.А., АСПИЗ М.Е. и БРАУДЕ А.И., 1966. Основы функцио -
нальной морфологии клетки. М.
4. АРУТЮНОВ В.Д. 1956. Приготовление постоянных препаратов для люминесцентной микроскопии. Ж.Общая биология, 17,1, стр.79.
5. АРУТЮНОВ В.Д. 1959. Методика приготовления постоянных гис -
тологических препаратов для люминесцентной микроскопии. Архив патологии, 8, стр.79. М.
6. БАКИЕВА Р.Г. 1955. Асфиксия новорожденных и роль метода Легенченко в профилактике мертворождаемости. Акушерство и гинекология, 3, стр. 57-59.
7. БИРЮЗОВА В.И. с соавт. 1963. Электронномикроскопические ме -
тоды исследования биологических объек -
тов. М.
8. БОДЯЖИНА В.И. 1963. Вопросы этиологии и профилактики нару -
шений развития плода. Медгиз, М.
9. БОРОВЯГИН В.Л., ДУБРОВ А.П. и БОИМОВ В.И. 1958. К методике
изготовления стеклянных ножей для ульт -
рамикротомов. Биофизика, т.3, В.6,
стр.732-734.
10. БОРОВЯГИН В.Л. и ДУБРОВ А.П., 1960. Ультратонкая микротомия
в электронномикроскопических исследова -
ниях биологических объектов. Цитология,
т.2, № 5, стр.613-619.
11. БРОДСКИЙ В.Я. 1965. Неделяющееся ядро. В кн.: "Руководство
по цитологии", т.1, Из-во "Наука",
стр.269.
12. БУХМАН М.П., ПОЛЬКИНА Р.И. и СЕРГЕЕВ Л.В. 1956. Методика при -
готовления постоянных препаратов для
флуоресцентной микроскопии. Ж. Общая би -
ология, 17,3, стр.239.

13. ВЕКСЛЕР Д.Б. 1962 Патоморфологические изменения в органах плодов и новорожденных при родах с длительным безводным периодом. Канд. дисс. М.
14. ВИННИКОВ Я.А., ТИТОВА Л.К., БРОНШТЕЙН А.А., КРЕСТИНСКАЯ Т.Б. и ЛУКАШЕВИЧ Т.П. 1960 Активность сукциндегидразы в митохондриях некоторых клеток, находящихся в состоянии относительного покоя и возбуждения. В сб.: "Вопросы цитологии и общей физиологии, М.-Л., стр.61-67.
15. ВИШНЕВЕЦКАЯ Л.О., АЛБАЦ Е.И., ВЕКСЛЕР Д.Б., ЕЛЯШЕВИЧ Г.П., ВОЙТ Е.Б., КРЫЛОВ Л.М. и РЕУТОВА И.Б. 1967. Некоторые вопросы морфологии и патогенеза важнейших причин перинатальной смертности. В сб.: "Некоторые актуальные вопросы педиатрии (Материалы юб.сессии Московского ин-та педиатрии и детской хирургии), стр.54-60.
16. ВТЮРИН Б.В. 1968. К вопросу о строении и функции лизосом. Арх. пат., № 6, стр.51-56.
17. ГИЛЕВ В.П. 1967. О тонком строении "миозиновых" протофибрилл поперечнополосатого мышечного волокна. Биофизика, т.XI, вып.2, стр.274-276.
18. ГИЛЕВ В.П. 1957. Применение желатины в качестве нового средства заливки биологических объектов для изготовления ультратонких срезов для электронной микроскопии. Успехи современной биологии 44, 2, стр.281-284.
19. ГЛАГОЛЕВА В.В. и ЧЕЧУЛИН Ю.С. 1968. Ультраструктурная основа нарушения функции сердечной мышцы. Атлас. М.
20. ГОЛИКОВ Ю.В. 1964. Люминесцентно-гистологическое исследование легких новорожденных с синдромом гиалиновых мембран. Материалы итоговой научной сессии, посвященной проблеме "Физиология и патология раннего детского возраста", стр.147-151.
21. ГОЛИКОВ Ю.В. 1966. Использование метакрилатов при приготовлении постоянных гистологических препаратов для люминесцентной микроскопии. Арх. анат., гист., эмбр., I, стр.75.

22. ГОЛИКОВ Ю.В., 1966. Ультраструктура воздушно-кровеносного барьера легких у недоношенных новорожденных при гипоксических состояниях в кн.: Вопросы недонашивания и недоношенности (рефераты докладов научной конференции), М., стр.81-82.
23. ПОЛУЯХТОВА М.В., СПЕРАНСКАЯ Е.М., ШАНТАРИНА И.В., ЧЕРНЫШЕВА Л.И. и ГОЛИКОВ Ю.В. 1966. Некоторые виды пневмонии у недоношенных новорожденных в раннем неонатальном периоде. Рефераты докладов юбилейной научной сессии Свердловского научно-исследовательского института охраны материнства и младенчества, посвященной 50-летию со дня организации Свердловского института ОММ. Свердловск, стр.36-37.
24. ГОЛИКОВ Ю.В. 1967. Выявление глизиновых мембран в легких новорожденных методом люминесцентной микроскопии. Архив патологии, 1967, стр.83-84.
25. ГОЛИКОВ Ю.В. 1968. К технике препарирования объектов для электронной микроскопии. В кн.: Тезисы Второй Свердловской конференции молодых научных работников по сельскому хозяйству. г.Свердловск, стр.139-141.
26. ГОЛИКОВ Ю.В. 1969. К вопросу использования электронной микроскопии в практике патологоанатомических исследований. В сб. "Аntenатальная охрана плода и физиология и патология детей раннего возраста" г.Свердловск, стр.112-115.
27. ЧЕРНЫШЕВА Л.И., ПОЛУЯХТОВА М.В., СПЕРАНСКАЯ Е.М. и ГОЛИКОВ Ю.В. Гистологическое и электронномикроскопическое исследование пневмонии у недоношенных новорожденных. В сб. "Аntenатальная охрана плода и физиология и патология детей раннего возраста. г.Свердловск, стр.119-121.
28. ДАШЕВСКИЙ М.И. 1962. Ультрамикротом УМД-5. Ж. Заводская лаборатория, 2, 228-229.
29. ДОМБРОВСКИЙ А.Н. и РОГОВ А.А. 1965. Гистохимические изменения в органах при экспериментальной гипоксии. В кн.: "Инфекционно-аллергические заболевания у детей", М., стр.107-111.
30. ЖАРОВ В.В. 1967. Материалы к определению давности наступления смерти. Канд. дисс., М.

31. ЗАВАРЗИН А.А. и РУМЯНЦЕВ П.П. 1965. Гиалоплазма (матрикс или основное вещество цитоплазмы). В кн.: "Руководство по цитологии", М.-Л., стр. 172-173.
32. ЗАЙДЕС А.А. 1960. Коллаген как многофазная и многокомпонентная система. В кн.: Симпозиум по соединительной ткани". М., стр. II-19.
33. КАРАСЬ В.М. 1940. Выносливость белых мышей к кислородному голоданию токсического происхождения в различных периодах роста. Бюлл. эксперим. биол. и мед., 10, 3, 9, стр. 206-208.
34. КАУФМАН О.Я. 1963. К вопросу о гиалиновых мембранах и пневмониях новорожденных. Вопросы окр. матер. и млад., т. 8, № 1, стр. 52-55.
35. КАУФМАН О.Я. 1965. Перестройка артерий малого круга человека при переходе от внутриутробного к внеутробному. 7-я науч. конф. по вопросам возрастной морфологии, физиологии и биохимии. Москва, стр. 82-83.
36. КЛЕМБОВСКИЙ А.И. 1964. Электронномикроскопическое исследование экспериментального гломерулонефрита крыс. Арх. пат. № 7, стр. 24-30.
37. КОЛЧИНСКАЯ А.З. 1959. О возрастных особенностях реакции организма на кислородную недостаточность. Труды 3-й науч. конф. по возрастной морфологии, физиологии и биохимии. М., стр. 302-308.
38. КРАНЧЕВ А.К. 1966. Электронномикроскопическое изучение изменений в легких белых мышей при экспериментальном гриппе. Арх. пат., 7, стр. 10-14.
39. КРАСИЛЬНИКОВА А.Я. 1967. Ультраструктура плаценты при неосложненной доношенной беременности. Акуш. и гинек. 8, стр. 25-29.
40. КРЫЛОВ Л.М. 1965. Электронномикроскопическое исследование легких при экспериментальной внутриутробной асфиксии. В кн.: "Методы физико-химического анализа. Ростов н/Дону, стр. 146-148.

41. КРЫЛОВ Л.М. 1965. Морфологическая характеристика изменений в легких у плодов и новорожденных при асфиксии (секционный и экспериментальный материал). Тезисы 2-й Всероссийской науч.практич.конф. детских патологоанатомов. М., стр.23-25.
42. КРЫЛОВ Л.М. 1968. Электронномикроскопическое исследование легких при экспериментальной внутриутробной асфиксии. В кн.: "Вопросы патологии органов дыхания у детей. М., стр.79-86.
43. ЛАЗОВСКИЙ Ю.М. 1941. Морфологические проявления кислородного голодания и значение последнего в механизме тканевых аллергических реакций. Клиническая медицина, 19, стр.10-11.
44. ЛАУЭР Н.В. 1949. К вопросу об устойчивости новорожденных к кислородной недостаточности. В кн.: "Гипоксия". Изд. АНУССР Киев, стр.91-96.
45. ЛЕГЕНЧЕНКО И.С. 1957. Опыт борьбы с асфиксией плода. Тезисы докладов X-го Всесоюзного съезда акуш. гинеков. М., стр.30.
46. МАШАНСКИЙ В.Ф., КОМИССАРЧИК Я.Ю., РЫБИН М.А. и ВЛИЧИЧЕНКО Л.Н. 1960. Применение рубинового ножа для ультратонких срезов. Цитология, 2, № 3, стр.376.
47. МАШАНСКИЙ В.Ф. 1961. Влияние температуры на ультраструктуру митохондрий у инфузорий. Цитология, 3, 5, стр.584-589.
48. МАШАНСКИЙ В.Ф. и РАГОЗИН В.А. 1964. Изменение ультраструктурной организации митохондрий при мышечной деятельности и гипотермии. В сб. "Электронная и флуоресцентная микроскопия клетки". М.-Л., стр.61-67.
49. МАШАНСКИЙ В.Ф. 1965. Митохондрии. В-сб.: "Руководство по цитологии". М., Из-во "Наука", т.1, стр.200-218.
50. МИКЕЛЬСААР Р.Н., 1968. К вопросу о патогенезе асфиксии новорожденных и морфологических ее проявлениях. Тезисы объединенной конференции патологоанатомов Белорусской, Латвийской, Литовской и Эстонской ССР. Минск. стр.41-43.

51. МИТИН К.С. 1965. Электронно-гистохимическое исследование ишемии миокарда в эксперименте. Арх. пат., I, стр.40-47.
52. МИТИН К.С. 1967. В кн.: Митохондрии. Биохимия и морфология. Материалы второго симпозиума "Структура и функция митохондрий" М., стр.98-106.
53. МОРОЗОВА Р.С. и МОРОХОВА Н.И. 1968. Коллагеновые и эластические волокна альвеолярно-капиллярной стенки в норме и при действии перегрузок. В кн. "Соединительная ткань в норме и патологии". Из-во "Наука", Сиб.отдел, стр.148-154.
54. НЕСТЕРОВ Е.Н. 1967. Поверхностно-активное вещество легких и его роль в норме и патологии. Арх. пат. № 7, стр.3-9.
55. НУТМАНОВА Х.С. и ШКУТИН А.Э. 1967. Электронномикроскопические изменения воздушно-кровяной мембраны легких при остром экспериментальном отеке. Материалы научной конференции, посвященной 100-летию кафедры патологической анатомии Харьковского медицинского института. Харьков, стр.88-89.
56. ОРЛОВСКАЯ Г.В. 1960. Эмбриональное развитие коллагеновых волокон. В кн.: "Симпозиум по соединительной ткани". М., стр.21-30.
57. ОРЛОВСКАЯ Г.В., ТУСТАНОВСКИЙ А.А. и ЗАЙДЕС А.Л. 1959. Компоненты аморфного вещества ретикулиновых волокон и их роль в гистохимических реакциях. Арх. пат., № 7, стр.23-32.
58. ПЕРСИАНИНОВ Л.С. 1957. Опыт применения внутриартериальных вливаний крови и лекарственных веществ при лечении асфиксии новорожденных. Тезисы докладов X-го съезда акуш.-гинеков. М., стр.28-29.
59. ПЕРСИАНИНОВ Л.С. 1961. Асфиксия плода и новорожденного. М.
60. ПЕРСИАНИНОВ Л.С. 1967. Асфиксия плода и новорожденного. М.
61. ПИЛЯКЕВИЧ А.Н. 1961. Практика электронной микроскопии. Машгиз.

62. ПОЛУХТОВА М.В. 1968. Патоморфология некоторых пневмоний у недоношенных детей, умерших в ранний неонатальный период. Свердловск, канд.дисс.
63. ПОТАПОВА И.Н. и СЕЛЕЗНЕВ Н.И. 1967. Изменения тонкой структуры легкого при экспериментальном берлиозе. Арх. пат., № 7, стр.15-19.
64. ПУЗИК В.И. 1956. Возрастное развитие соединительной ткани легкого. Материалы конф. по морфологии человека. Москва, стр.16-33
65. ПЫЛДВАРЕ Э.И. 1966. Ультратонкое строение печеночных клеток мышей СзНА. В кн.: "Электронная микроскопия клеток животных. Из-во "Наука", М.-Л., стр.75-89.
66. РАЙКОВ И.В. 1968. Структура клетки Ядро в интерфазе. В кн.: "Введение в цитологию". Из-во "Медицина" стр.55-69.
67. САЛОВ В.Ф. 1967. Электронномикроскопическое исследование стенки легочной альвеолы в процессе образования иммунитета при вакцинации БЦЖ. Канд.дисс.М.
68. САРКИСОВ Д. и ВТОРИН Б. 1967. Электронная микроскопия деструктивных и регенеративных внутриклеточных процессов. Из-во "Медицина", М.
69. СЕРЖАНИНА А.Н. и ПУЧКОВ Г.Ф. 1966. Морфологические изменения легких у новорожденных и мертворожденных при различных методах оживления. Акуш. и гинек. I, стр.26-30.
70. СОРОКИН А.Ф. 1965. Отечно-геморрагический легочный синдром как морфологическое выражение вторичной асфиксии у недоношенных новорожденных. Педиатрия, II, стр.34-38.
71. СТЕФАНОВ С.Б. 1963. Контейнер для хранения и транспортировки электронномикроскопических препаратов. Лабораторное дело, 3, стр.60.
72. СТРУКОВ А.И. 1967. Патологическая анатомия. М., стр.51
73. СТРУКОВ А.И. и МИТИН К.С. 1967. Функциональная морфология миокарда в норме и патологии. Современные проблемы физиологии и патологии сердечно-сосудистой системы. Из-во "Медицина" стр.252-267.

74. ТИНЯКОВ Ю.Г. 1966. Планшет для хранения сеток с объектами для электронной микроскопии. Арх. пат., 9, стр.8
75. ТОКИН И.Б. 1968. Лизосомы. В кн.: "Введение в цитологию" Из-во "Медицина", стр.92-95.
76. ТОКИН И.Б. и РЕДЬК П. 1965. Усовершенствование метода фиксации глутаральдегидом для лучшего сохранения тонкой структуры клетки. Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии № 6, стр.106-109.
77. ШИШКОВА В.Н. 1962. Патоморфологические особенности белой и синей асфиксии. Труды 2-й Всесоюзной конференции патологоанатомов, Минск, стр.18-20.
78. АФЦЕЛИУС Б. 1965. Химические фиксаторы в электронной микроскопии. В кн.: Ультраструктура и функция клетки. Перевод с англ. Из-во "Мир", М. стр. 9-18.
79. ASHWORTH C.T.,
STEMBRIDGE V.A.
1964. Utility of formalin fixed surgical and autopsy specimens for electron microscopy.
Amer. J. Clin. Path., 42, 466-480
80. AVERY M.E. 1962. The alveolar lining layer: a review of studies on its role in pulmonary mechanics and in pathogenesis of atelectasis.
Pediatrics, 30, 324.
81. BARGMANN W.,
KNOOP A. 1956 Vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungen der Lungenkapillaren.
Z. Zellforsch. 44, 263.
82. BARGMANN W.,
KNOOP 1956. Über das elektronenmikroskopische Bild des eosinophilen Granulocyten.
Z. Zellforsch. 44, 282-291.
83. BALIS J.U.,
CONEN P.E. 1964 The role of alveolar inclusion bodies in the developing lung.
Lab. Invest., 13, 1215-1229.
84. BALIS J.U.
DELIVORIA MARIA,
CONEN PATRIC E.
1966. Maturation of postnatal human lung and the idiopathic respiratory distress syndrome.
Lab. Invest., 15, 530-546.

85. BENNETT S. 1956. J. Biophys. Biochem. Cytol., 2, Part 2, suppl. 99-103.
86. BENNETT HS. 1956. The concepts of membrane flow and membrane vesiculation as mechanisms for active transport and ion pumping.
J. biophys. biochem. cytology. 2, suppl. 99-103.
87. BENSCH K.,
SCHAEFER K.,
AVERY M. 1964 Granular pneumonocytes; electron microscopic evidence of their exocrine function.
Science, 145, 1318-1320.
88. BERENBOM M.,
CHANG P.I.,
BETZ H.,
STOWELL R.E. 1955 Chemical and enzymatic changes associated with mouse liver necrosis in vitro.
Cancer Res., 15, 1.
89. BERTALANFFY F.D. 1964. Tritiated Thymidine versus Colchicine Technique in the study of Cell Population Cytodynamics.
Lab. Invest., 12, 8, 871-886.
90. BERTALANFFY F.D. 1965. On the nomenclature of the cellular elements in respiratory tissue.
Amer. Rev. Resp. Dis., 91, 605.
91. BOLANDE R.P.,
KLAUS M.H. 1964. The morphologic demonstration of an alveolar lining layer and its relationship to pulmonary surfactant.
Am. J. Path., 42, 449-463.
92. BOMMER W. 1961 Pneumocystis Carinii in Interstitial Plasma-Pneumonia.
Amer. J. Dis. Child., 102, 375-379.
93. BOMMER W. 1962. Studies on the "Laminated Bodies" in the alveolar epithelium of human lung.
Ann. paediat., 199, 4, 502-513.
94. BREEMEN V.L. van
NEUSTEIN H.B. 1956. Electron microscopic studies of lung tissue from guinea pigs and premature infants.
Anat. Rec. 124, 472-473.

95. BRADLEY D.E. 1954 Evaporated carbon films for use in electron microscopy.
J. Appl. Physics, 6, 1, 65-66.
96. BRAUNSTEINER H.K.,
FELLINGER,
PAKESCH F. 1953 Demonstration of a cytoplasmic structure in plasma cells.
Blood, 8, 916-922.
97. BREEMEN V.L., van,
NEUSTEIN H.B.,
BRUNS P.D. 1957. Pulmonary hyaline membranes studied with the electron microscope.
Amer. J. Path., 33, 769-789.
98. BRYANT R.E.,
THOMAS N.A.,
O'NEAL R.M.
1958. An electron microscopic study of myocardial ischemia in the rat.
Circulat. Res., 6, 699-709.
99. BUCKINGHAM S.,
AVERY M. 1962. Time of appearance of lungs surfactant in the foetal mouse.
Nature, 193, 688-689.
100. BÜCHERL E.S.,
KLOOS K.F.,
WOLFF J. 1962. Elektronenmikroskopische Befunde an der Hundelunge unter normalen Bedingungen und bei experimenteller Hyperkopenie.
Frankfurter Zeitschrift für Pathologie, 72, 167-178.
101. CAMPICHE M. 1960. Les inclusions lamellaires des cellules alvéolaires dans le poumon du Raton.
J. Ultrastructure Res., 3, 302.
102. CAMPICHE M.,
PROD'HOM S.,
GAUTIER A. 1961. Etude au microscope électronique du poumon de prématures morts en détresse respiratoire.
Ann. paediat., 196, 81-95.
103. CAMPICHE M.,
JACCOTTET M.,
JULLARD ED. 1962. La pneumonose à membranes hyalines. Observations au microscope électronique.
Ann. paediat., 199, 74-88.
104. CAMPICHE M.,
GAUTIER A.,
HERNANDEZ F.F.,
RAYMOND A. 1963. An electron microscope study of the fetal development of human lung.
Pediatrics, 32, 6, 976-994.

105. CAULFIELD J.B. 1957. Effects of varying the vehicle for Osmy in tissue fixation.
J. Biophys. and Biochem. Cytol., 3, 827.
106. CAULFIELD J.,
KLINOSKY B. 1959. Miocardial ischemia and early infarction: an electron microscopic study.
Amer. J. Phat., 35, 3, 489-523.
107. CHAMBERS R.,
ZWEIFACH B.W. 1947. The capillaries.
Physiol. Rev., 27, 436.
108. CHASE W.H. 1959. The surface membrane of pulmonary alveolar walls.
Experimental cell Research, 18, 15-28.
109. CLAUDE A. 1946. Fraction of mammalian liver cells differential centrifugation.
J. Exptl. Med., 84, 51, 61.
110. COMROE T.H.,
FORSTER R.E.,
DUBOIS A.B. 1955. The lung.
Clinical physiology and pulmonary function tests. Chicago.
111. COOPER E. 1938. A histological investigation of the development and structure of the human lung.
J. Pathol. and Bact., 47, 1, 105-114.
112. COOK M.L.,
OSVALDO L.,
JACKSON J.D.,
LATTA H. 1965. Changes in Renal Glomeruli during autolysis. Electron Microscopic Observations.
Lab. Invest., 14, 6, Part 1, 623-634.
113. DALTON A.J.,
MARIE D.,
FELIX D. 1954. Cytologic and cytochemical characteristics of the Golgi substance of epithelial cells of the epididymis in situ, in homogenates and after isolation.
Amer. J. Anat., 94, 2, 171.
114. DALTON A.J. 1955. A chrom-osmium fixative for electron microscopy.
Anat. Rec., 121, 2, 281.

115. DAVID H. 1964. Theory and practical use of the fixation and embedding methods for electron microscopy.
Z. Med. Labortechn., 5, 169-216.
116. DETTMER N. 1955. Entwicklung und Probleme elektronenmikroskopischer Bindegewebsforschung.
Arztl. Wochenschr., 41, 10, 708-713.
117. DIVERTIE M.B., BROWN A.L., 1964. The fine structure of the normal human alveolocapillary membrane.
JAMA, 187, 12, 938-941.
118. DUBREUIL G., LACOSTE A., RAYMOND R. 1936. Observations sur le developpement du poumon humain.
Bull. Histol. Appl. Physiol., 13, 235.
119. Де Дюв I962. Лизосома - новый тип цитоплазматических частиц. В кн.: Структурные компоненты клетки.
М. 128-172.
120. Де Дюв К. I964. Лизосома. В кн.: Структура и функция клетки.
Перевод с англ. Из-во "Мир". М., стр. 90-103.
121. ELFVIN L.G. 1961. The ultrastructure of the nodes of ranvier in cat sympathetic nerve fibers.
J. Ultrastr. Res., 5, 4, 374-395.
122. ELFVIN L.G. 1963. The ultrastructure of the plasma membrane and myelin sheath of peripheral nerve fibers after fixation by freeze-drying.
J. Ultrastr. Res., 8, 3-4, 283-304.
123. ENGSTRÖM H. 1951. The structure of the tracheal cilia.
Acta oto-laryng. (Stockh.), 39, 364-365.

124. ENGSTRÖM H.,
WERSÄLL F. 1952. Some principles in the structure of vibratile cilia.
Ann. Otol. (St. Louis) 61, 1027-1038.
125. ERICSSON J.L.,
SALDINO A.J.,
TRUMP B.F. 1965. Electron microscopic observation of the influence of different fixatives on the appearance of cellular ultrastructure.
Z. Zellforsch., 66, 161-818.
126. FAWCETT W. 1956. Observations on the submicroscopic structure of small arteries, arterioles and capillaries.
Anat. Rec., 124, 401.
127. FERNANDES-MORAN H.
1953. A diamond knife for ultrathin section.
Exp. Cell Res., 5, 2, 255.
128. FERNANDEZ-MORAN H.
1956. Application of a diamond knife for ultrathin sectioning to the study of biological tissues and metals.
J. Biophys. Biochem. Cytol., 2, 4, Suppl., 29-30.
129. FERNANDEZ-MORAN H.,
FINEAN J. 1957. Electron microscope and low angle X-ray diffraction studies of the nerve myelin sheath.
J. Bioph. Bioch. Cytol., 3, 725-748.
130. FERNANDEZ-MORAN H.
1962. Cell-membrane ultrastructure.
Circulation, 26, 1039.
131. FERNANDEZ-MORAN H.,
ODA T.,
BLAIR P.V.,
GREEN D.E. 1963. A macromolecular repeating unit of mitochondrial structure and function.
Science, 140, 381-382.
132. FINCK H. 1960. Epoxy resins in electron microscopy.
J. Biophys. Biochem. Cytol., 7, 1, 27.
133. FREEMAN J.,
SPURLOCK, 1962. A new epoxy embedment for electron microscopy.
J. Cell Biol., 13, 437.

134. ГАРБИНСКИ ТАДЕУШ
1967. К вопросу функциональной системы дыхания. В кн.: Болезни системы дыхания. Варшава, 9-20.
135. GALE M. 1951 Action de la splenectomie sur le poumon de quelques Kengeurs. O.R. Soc. Biol., 144, 19-20, 1315-1317.
136. GAUTIER A.,
CAMPICHE M.,
BOZIC C.,
HERNANDEZ E.,
REYMOND A.,
VERDAN C. 1964. Pulmonary epithelium in the human fetus and newborn. Electron microscopy. Proc. 5th Inter. Conf. on electron Microscopy, Philadelphia, 1962, 2, 6.
137. GIBBONS,
GRIMSTONE. 1960 Цитир. по П.П. Румянцеву. В кн.: Руководство по цитологии. М.-Л., 244.
138. GIESE W.,
GIESEKING R. 1957 Die submikroskopische Struktur des fibrillären Grundgerüsts der Alveolarwand. Beitr. path. Anat., 117, 17-31.
139. GITLIN D.,
CRAIG J.M., 1956 The nature of the hyaline membrane in asphyxia of the newborn. Pediatrics, 17, 64-71.
140. GLAUERT A.M.,
GLAUERT R.H. 1958. Araldite as an embedding medium for electron microscopy. J. Biophys. Bioch. Cytol., 4, 2, 191-194.
141. GOLDBLATT P.J.,
TRUMP B.F.,
STOWELL R.E. 1963. Early histochemical alterations in mouse hepatic cells during necrosis in vitro (autolysis) (obstr.) Lab. Invest., 12, 861.
142. ГРИН Д.Е. 1962. Строение и функция митохондрии. В кн.: Структурные компоненты клетки. ИЛ., 78-101.
143. ГРИН Д.Е. 1964. О биологических мембранах. В кн.: Молекулярная биология. Проблемы и перспективы. Из-во "Наука", М., 260-720.

144. GRODIS L. 1966. Lysomes and disease.
J. Pediat., 68, 4, 638-649.
145. GREGG R.H.,
BERNSTEIN J. 1961. Легочные гиалиновые мембраны и син-
том дыхательного истощения.
Amer. J. Dis. Child., 102, 6,
871-890.
М.Р.И., раздел 5, 832 /6/, 1962.
146. GRONIEWSKI J.,
GABRYEL P.,
GREMBOWICZ L. 1957. Badania zespolu blon szklistych
pluc noworodka. II. Badania zespdu
blon szklistych w mikroskopii
fluorescencyjnej.
Pat. Pol., 8, 23.
147. GRONIEWSKI J.,
DJACZENKO W. 1958. Fourth International Conference
on electron microscopy (Proceed-
ings) Berlin 1958. Springer II,
404-409. The ultrastructure of rat
lung in the pre and postnatal pe-
riod. Some remarks on the fine
structure on the fetal alveolar
epithelium.
148. GRONIEWSKI J.,
BICZYSKOWA W. 1962. Ultrastructure of the blood-air
barrier of the neonatal human lungs.
Proc. 5-th Intern. Congr. Electron.
Microscopy, 2,
149. GRONIEWSKI J.,
BICZYSKOWA W. 1963. The fine structure of the lungs in
the course of Hyaline membrane di-
seases of the newborn infant.
Biol. Neonat., 5, 113-124.
150. GRONIEWSKI J.,
BICZYSKOWA W. 1964. Structure of the alveolar lining
film of the lungs.
Nature (London), 204, 745-7, 21.
151. GRONIEWSKI J. 1964. О возможности применения электрон-
но-микроскопических исследований в
патоморфологии плода и новорожден-
ных.
Gineologia Polska, XXXV, 2, 303-
308.
152. GRUENWALD P. 1963. Normal and abnormal expansion of the
lungs of newborn infants obtained
at autopsy. III. The pattern of ae-
ration as affected by gestational
and postnatal age.
Anat. Rec., 146, 337.

153. GRUENWALD P. 1964. The course of respiratory distress syndrome of newborns as indicated by poor stability of expansion.
Acta Paediat., 53, 470.

154. HALL C.E. 1963. Electron microscopy of the fibrinogen molecule and the fibrin clot.
Lab. Invest., 12, 998.

155. HAUSAMEN T.U.,
POCHE R. 1965. Die ultrastruktur des Herzmuskels der Ratte nacheinmaligen und Wiederholten Unterdruckesuchen.
Virchows Arch. pathol. Anat. und Physiol., 339, 212-224.

156. HAVEK H.v.,
BRAUNSTEINER H.,
PAKESCH F. 1957. Über die Veränderlichkeit der Microvilli der Alveolarepithelien bei Temperaturveränderungen. (Elektronenmikroskopische Untersuchungen).
Wien Z. Inn. Med., 38, 165-169.

157. HAVEK H.v.,
BRAUNSTEINER H.,
PAKESCH F. 1958. Über das Lugrundegehen und die Neubildung von Mitochondrien in Alveolarepithelzellen.
Wien Klin. Wschr., 70, 951-954.

158. ХАРРИС Д.,
МИХИ Д.,
МЮИР А.,
РОБЕРТС К.,
УОКЕР П. 1967. Введение в молекулярную биологию. Перевод с англ. М.

159. HARRIS P.,
MAZIA D. 1959. The use of mercurio bromphenol blue as stain for electron microscopy.
J. Biophys. Biochem. Cytol., 2, 2, 343-344.

160. HARRI S.H.,
CHANG J.P. 1963. Histochemical study of adenosine triphosphatase in cytoplasm.
J. Histochem. Cytoch. 11, 71-79.

161. ХАРРИС Д.,
МИХИ Д.,
МЮИР А.,
РОБЕРТС К.,
УОКЕР П. 1967. Введение в молекулярную биологию. Перевод с англ. М.

162. HEINZ D.,
ARNO H. 1963. Elektronenmikroskopische Junde an den Herzmuskellen der Ratte in späteren Stadien des experimentellen Herzinfarktes.
Z. ges. innere Med., 18, 8, 351-357.
163. ХЕРМАН Л.,
САТО Т.,
ФИЦЦАРАЛД П. 1967. Поджелудочная железа.
В кн.: Электронно-микроскопическая анатомия.
Перевод с англ. Из-во "Мир", стр. 39-58.
164. HIBBS R.G.,
BLACK W.C. 1963. Electronmicroscopy of postmortem changes in the rat myocardium.
Anat. Rec. 147, 261-272.
165. HIROMOTO
YASUDA 1958. Electron microscopic cyto-histopathology (IV). A study of normal adult and fetus lung in mammals as revealed by electromicroscopy.
Acta Pathologica Japonica, 8, 2, 189-213.
166. ХИРН Г. 1963. О принципе "конвейера" в выработке ферментов экзокринными клетками поджелудочной железы.
В кн.: Функционал. морфология клетки. ИЛ., 167-184.
167. HOLLO T.,
FÖLDES G. 1966. Az úgynyvezett hyalin membrán be-
tegségéről.
Orv. Hetil., 107, 7, 297-300.
168. HOELSCHER B.,
JUST O.H.,
MERKER H.I. 1961. Studies by electron microscope on various forms of induced cardiac arrest in dog and rabbit.
Surgery, 49, 492-499.
169. HUNTER F.E.,
JEROME Jr.,
LEVY F.,
FINK J.,
SCHUTZ B.,
GUERRA F.,
HURWITZ A. 1959. Studies on the mechanism by which anaerobiosis prevents swelling of mitochondria in vitro: effect of electron transport chain inhibitors.
J. Biol. Chem., 234, 8, 1276-1286.
170. ITO S. 1961. Persistence of cellular fine structure after death. Proceedings of the First Annual Meeting of the American Society for Cell Biology, Chicago, (abstract).

171. ITO S. 1962. Post-mortem changes of the plasma membrane.
Fifth International Congress for Electron microscopy, vol. 2, 1-5, Academic Press, Philadelphia.
172. ITO S. 1965. Изучение цитоплазматических мембранных органелл в световом и электронном микроскопе.
В кн.: Ультраструктура и функция клетки. Перевод с англ., М., 78-83.
173. KARRER H.E. 1954. A comparison of normal and infected mouse lung by means of the electron microscope.
J. Appl. Phys. 25, 1461.
174. KARRER H.E. 1956a. An electron microscopic study of the fine structure of pulmonary capillaries and alveoli of the mouse.
Bull. Johns Hopk. Hosp., 98, 65-85.
175. KARRER H.E. 1956b. Electron microscopic study of bronchiolar epithelium of normal mouse lung.
Exp. Cell Res., 10, 237-241.
176. KARRER H.E. 1956c. The ultrastructure of mouse lung. Fine structure of the capillary endothelium.
Exp. Cell Res., 11, 542-547.
177. KARRER H.E. 1956d. The ultrastructure of mouse lung. General architecture of capillary and alveolar walls.
J. Biophys. Biochem. Cytol., 2, 241-252.
178. KARRER H.E. 1956e. The ultrastructure of mouse lung. Some remarks regarding the fine structure of the alveolar basement membrane.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 2, Suppl., 287-292.
179. KARRER H.E. 1958b. The ultrastructure of mouse lung: the alveolar macrophage.
J. Biophys. Biochem. Cytol., 4, 693-700.

180. KARRER H.E. 1958c. The fine structure of connective tissue in the tunica propria of brouchioles.
J. Netrastruct. Res. 2, 96-122.
The alveolar macrophage. 41 Internat. Kong. für Elektronenmikroskopie, Berlin.
181. KARRER H.E. 1960. Electron microscopic study of phagocytosis process in lung.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 7, 357-366.
182. KENNEDY J. 1955. Tubular structure of collagen firrills.
Science, 121, 673.
183. KIKKAWA Y.,
MOTOYAMA F.K.,
COOK C.D. 1965 The ultrastructure of the lungs of lambs. The relation of osmiophilic inclusions and alveolar lining layer to fetal maturation and experimentally produced respiratory distress.
Amer. J. Path., 47, 877-903.
184. KIKKAWA V.,
MOTOYAMA E.K.,
GLUCK L. 1968. Study of the lungs of fetal and new-born rabbits morphologic, biochemical and surface physical development.
Amer. J. Path., 52, 1, 177-209.
185. KISCH B. 1955. Electron microscopic investigation of the lungs (Capillaries and specific cells).
Exp. Med. Surg., 13, 101-117.
186. KISCH B. 1957. Electron microscopie investigations of lungs. II Specific cells and other cells with osmiophyle enclosures.
Exp. Med. Surg., 15, 101-118.
187. KISCH B. 1958. Electron microscopy of the lungs in acute pulmonary edema.
Exper. med. and surg., Her. N 23, 16, 1, 17-28.
188. KISCH B. 1958. Electron microscopy of the lungs. III Endothelial cells of the smallest airducts.
Exper. Med. and Surg., 16, 1, 1-16.

189. KISCH B. 1958. Elektronenmikroskopische Untersuchungen bei akuten Lungenödem. Medizin. Klin., N 31-32, 1189-1190.
190. KLAUS M., CLEMENTS J.A., HAVEL R.J. 1961. Composition of surface-active material isolated from beef lung. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.), 47, 1858-1859.
191. KLAUS M., REISS O.K., TOOLEY W.H., PIEL C., CLEMENTS J.A. 1962. Alveolar epithelial cell mitochondria as source of surface-active lung lining. Science, 137, 750-751. (Sept.).
192. KNOLL M., RUSKA E. 1932. Das Elektronenmikroskop. Ztschr. f. Physik., 78, 5-6, 318.
193. KONRADOVA V. 1968. The Ultrastructure of the epithelium of the human trachea and large branchi. Folia morphologica., XVI, 4, 398-403.
194. LATA H., HARTMANN J.F. 1950. Use of a glass edge in thin sectioning for electron microscopy. Proc. Soc. exp. Biol., 74, 436-439.
195. LATTA H., OSVALDO L., JACKSON J.D., COOK M.L., 1965. Changes in renal cortical tubules during autolysis. Electron Microscopic Observation. Lab. Invest., 14, 6, Part 1, 635-657.
196. LAUWERYS J.M., EGGERMONT E., van Den KRIESSCHE A., DENYS P. 1965. L'atelectasia pulmonaire neonatale secondaire avec membranes hyalines. Arch. franc. Pediat., 22, 1, 5-19.
197. LAUWERYS J.M. 1968. Pulmonary venous vasculature in neonatal hyaline membrane disease. Science, 160, 3824, 190-192.
198. LEESON T.S., LEESON C.R. 1966. Osmiophilic lamellated bodies and associated material in lung alveolar spaces. The J. of Cell Biology, 28, 3, 577-581.

199. LEDUC E.H.,
BERNHARD W. 1961. Ultrastructural cytochemistry En-
zyme and acid hydrolysis of nuc-
leic acids and protein.
J. Biophys. Biochem. Cytol., 10,
3, 437-452.
200. LEDUC E.H.,
HOLT S.J. 1965. Hydroxypropyl methacrylate a new
medium for electron microscopy.
J. Cell Biol., 26, 137-155.
201. LEHNINGER A.L. 1962. Water uptake and extrusion by mito-
chondria in relation to oxidative
phosphorilation.
Physiol. Rev., 42, 3, 467-510.
202. LEHNINGER A. 1966. Митохондрия. Молекулярные основы
структуры и функции. М.
203. LEVENE C.I. 1955. The electron microscopy of atheroma.
Lancet, 269, 1216.
204. LEWIS W.H. 1931. Pinocytosis.
J. Hopk. Hosp. Bull., 49, 17.
205. LOOSLY C.G. 1938. The structure of the respiratory
portion of the mammalian lungs with
notes on the lining of the frog
lung.
Amer. J. Anat., 62, 3, 375-416.
206. LOOSLY C.C.,
POTTER E.L. 1959. Pre-and postnatal development of
the respiratory portion of the hu-
man lung.
Amer. Rev. Resp. Dis., 80
(Suppl.), 5.
207. LOW F.N. 1952. Electron microscopy rat lung.
Ant. Rec., 113, 437-443 (Aug.).
208. LOW F.N.,
DANIELS C.W. 1952. Electron micrographs of the pulmo-
nary alveolar wall.
Anat. Rec., 112, 456.
209. LOW F.N. 1953. The pulmonary alveolar epithelium
of laboratory mammals and man.
Anat. Rec., 117, 241.
210. LOW F.N. 1954. The electron microscopy of sectioned
lung tissue after varied duration of
fixation in buffered osmium tetro-
xide.
Anat. Rec., 120, 4, 827-838.

211. LOW F.N.,
SAMPAIO M.M., 1957 The pulmonary alveolar epithelium
as in entodermal derivation.
Anat. Rec., 1, 51-64.
212. LOW E.N.,
FREEMAN J.A. 1958. Electron microscopic atlas of nor-
mal and leukemic human blood.
New York: McGraw-Hill Book Comp.
213. LUFT J.H. 1956. Permanganate - a new fixative for
electron microscopy.
J. Biophys. and Biochem. Cytol.,
2, 799-801.
214. LUFT J.H. 1961 Improvements in epoxy resin embed-
ding methods.
J. Biophys. Biochem. Cytol., 9,
409.
215. MACKLIN Ch. C. 1954 The pulmonary alveolar mucoid film
and the pneumocytes.
Lancet, 216, 6822, 1099-1104.
- 0
216. MARINZZI V. 1961. Cytochimie ultrastructurale. Fixa-
tions et colorations.
Experientia, 17, 429.
217. MARINOZZI V. 1961. Silver impregnation of ultrathin
sections for electron microscopy.
J. Biophys. and Biochem. Cytol.,
9, 1, 121-133.
218. MEESEN H. 1948. Chronic carbon dioxide poisoning.
Arch. Pat., 45, 36.
219. MEESEN H. 1960; Die Pathomorphologie der Diffusion
und Perfusion.
Verh. dtsh. Ges. Path. 44, 98-
127.
220. MEESEN H.,
SCHULZ H. 1957. Elektronenmikroskopische Unter-
suchungen des experimentellen
Lungenödems.
Lungen und Kleiner Kreislauf.
Bact. Deynhausener Gespräche 1,
19-21, 54-63. Berlin-Göttingen-
Heidelberg Springer.
221. MENDENTHALL R.M.,
SUN C.N. 1964. Surface lining of lung alveoli as
a structure.
Nature (London), 201, 4920, 714.

222. MERKOW L.,
KLEINERMAN J. 1966. An electron microscopic study of pulmonary vasculitis induced by nonocrotaline.
Laboratory Investigation, 15, 3, 547-564.
223. MILLONIG G. 1961 Advantages of a phosphate buffer for Oson solutions in fixation.
J. Appl. Phys., 32, 1637.
224. MIRSKY A.E.,
OSAWA S. 1961. In "The Cell" (J. Brachet and A.E. Mirsky, eds), Academic Press, New-York, 11, 677.
225. MIRSKY A. 1962. Клеточное ядро.
В кн.: Функциональная биохимия клеточных структур.
Изд. АН СССР, стр. 81-90.
226. MIRSKY A.,
OSAWA S. 1963. Интерфазное ядро.
В кн.: Функциональная морфология. ИЛ. М., 9-68.
227. MÖLBERT E. 1956. Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Leberparenchym bei akuter Hypoxie.
Klin. Wschr., 34, 928.
228. MÖLBERT E.,
GUERRITORE D. 1957. Elektronenmikroskopische Untersuchungen am Leberparenchym bei akuter Hypoxie.
Beitr. path. Anat., 117, 32-49.
229. NEUSTEIN H.B.,
van BREEMEN V.L. 1956. Pulmonary hyaline membrane disease: a morphologic study utilizing the electron microscope.
Am. J. Path., 32, 613.
230. NEWMAN S.B.,
BORYSKO E.,
SWERDLOW M. 1949. Ultra-microtomy by a new method.
J. Res. Nat. Bureau Stand., 43, 3, 183-199.
231. OSVALDO L.,
JACKSON D.,
COOK M.K.,
LATTA H. 1965. Reactions of kidney cells during autolysis. Light microscopic observations.
Lab. Invest., 14, 6, Part 1, 603-622.
232. COOK M.,
OSVALDO L.,
JACKSON D.,
LATTA H. 1965. Changes in renal glomeruli during autolysis. Electron microscopic observations.
Lab. Invest., 14, 6, Pt 1, 623-634.

233. PALADE G.E. 1952. A study of fixation for electron microscopy.
J. Exper. Med., 95, 285-298.
234. PALADE G.E. 1953. Fine structure of blood capillaries.
J. Appl. Phys., 24, 1424.
235. PALADE G.E. 1953. The fine structure of mitochondria. An electron microscopic study.
J. Histochem. Cytochem., 1, 188.
236. PALADE G.E. 1956. The endoplasmic reticulum.
J. Biophys. Biochem. Cytol., 2, Suppl. 85-99.
237. PARSONS D. 1963. Mitochondrial structure: two types of subunits on negatively stained mitochondrial membranes.
Science, 140, 3570, 985-987.
238. PATTLE R.E., THOMAS L.C. 1961. Lipoprotein composition of the film lining the lung.
Nature, 189, 844.
239. PERIER 1968. /Бельгия/. Цитир. по И.Ш. Вайсман
Арх. пат. 5, 87-89.
ИИРС Э. Гистохимия теоретическая и прикладная. М.
240. ПИТЕРМАН М. 1967. Физические и химические свойства рибосом. Перев. с англ. М.
241. ПИЗ Д. 1963. Гистологическая техника в электронной микроскопии. Перев. с англ. М.
242. POCHE R. Lichtmikroskopische Untersuchungen des Herzmuskels vom Menschen nach induziertem Herzstillstand.
HORST G. 1963. Arch. Kreislaufforsch., 41, 1-2, 86-135.
243. POLICARD A., COLLET A., GILTAIRE-RALYTE L., 1954. L'alveole pulmonaire au microscope électronique.
Presse méd., 62, 1775-1777.

244. POLICARD A.,
COLLET A.,
GILTAIRE-RALYTE L.
1955. Recherches au microscope électronique sur la phagocytose des particules de silice.
Rev. Hémat. 10, 674-688.
245. POLICARD A.,
COLLET A.,
PREGERMAIN,
REUET C. 1956. Electron microscope studies on alveolar cells from mammals.
Electron Microscopy, Proceed.
Stockholm Conf. Sept. 1956, 244-246.
246. POLICARD A.,
COLLET A.,
PREGERMAIN. 1957. Etude au microscope électronique des capillaires pulmonares.
Acta Anat., 30, 624-638.
247. POLICARD A.,
COLLET A.,
BREGERMAIN S.,
REUET C. 1958. Etude au microscope électronique des réactions cellulaires expérimentales à la silice.
3. Internat. Staublungentagg,
Münster 1957. Die Staublungenerkrankungen, Bd. 3, 368-373. Darmstadt; Dr. Dietrich Steinkopff.
248. POLICARD A.,
COLLET A.,
PREGERMAIN. 1959. Recherches au microscope électronique sur les cellules parietales alveolaires du poumon des mammifères.
Zeitschr. für Zellforschung, 50, 561-587.
249. ПОЛИКАР А.,
БО Ш. 1962. Субмикроскопическая структура клеток и тканей в норме и патологии, их физиологическое и патологическое значение. М.
250. ПОЛИКАР А.,
КОЛЛЕ А., 1966. Физиология нормальной и патологической соединительной ткани.
Перев. с фран., Новосибирск.
251. PORTER K.,
BLUM J. 1953. A study in microtomy for electron microscopy.
Anat. Rec., 117, 3.
252. PORTER K.R. 1954. Electron microscopy of basophilic components of cytoplasm.
J. Histochem. and Cytochem., 2, 346.
253. ПОРТЕР К. 1963. Основное вещество цитоплазмы по данным электронной микроскопии.
В кн.: Функциональная морфология клетки. И.Л.М. 86-II2.

254. REIDBORD H.E.,
SPITZ W.U.
1966. Ultrastructural alternations in rat lungs. Change following asphyxiation.
Arch. Path., 82, 80-84.
255. REYNOLDS E.S. 1963. The use lead citrate and high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy.
J. Cell. Biol., 17, 208-212.
256. RHODIN J. 1954. Correlation of ultrastructural organization and function in normal and experimentally changed proximal convoluted tubule cells of the mouse kidney. Stockholm.
257. RHODIN J.,
DALHAMN. 1954. The ultrastructure of the epithelial cells in the trachea of the albino rat.
J. Appl. Phys., 25, 1463.
258. RHODIN J.,
DALHAMN T. 1955. Electron microscopy of collagen and elastin in lamina propria of the tracheal mucosa of rat.
Exp. Cell. Res., 9, 371-375.
259. RICHTER G.W. 1957. A study of hemosiderosis with the aid of electron microscopy with observations on the relationship between hemosiderin and ferritin.
J. exp. Med., 106, 203-318.
260. РИС Р. 1965. Ультраструктура клеточного ядра.
В кн.: Ультраструктура и функция клетки. Перев. с англ. М., 41-49.
261. РОБЕРТС Э. де,
НОВИЦКИЙ В.,
САЭС Ф. 1967. Биология клетки.
Перев. с англ. М.
262. ROBERTSON J.D. 1955. The ultrastructure of adult vertebrate peripheral myelinated fibers in relation to myelinogenesis.
J. Biophys. Biochem. Cytol., 1, 4, 271-278.
263. ROBERTSON J.D. 1958. New observation on the ultrastructure of the membrane of frog peripheral nerve fibers.
J. Biochem. Biophys. Cytol., 4, 349-364.

264. ROBERTSON J.D. In: The structure and function of subcellular components.
Cambridge 1959, 1-43.
265. ROODYN D.B. 1962. Protein synthesis in mitochondria.
III. Biochem. J. 85, 177.
266. RONILLET Ch. 1960. Physiological and pathological changes in mitochondrial morphology.
Intern. Rev. Cytol., 9, 227-282.
267. RUSKA,
KNOLL,
BORRIES 1928. Цитир. по З.С. Кацнельсон: "Клеточная теория в её историческом развитии." Л. 1963, 259.
268. SABATINI D.D.,
BENSCH K.G.,
BARNETT R.J. 1962. New fixatives for cytological and cytochemical studies.
Proc. 5th Intern. Conf. on Electron microscopy.
Philadelphia, 2, 1-3.
269. SCHLIPCOTER H.W. 1954. Elektronenoptische Untersuchungen ultradünner Längsschnitte.
Deutsch Med. Wschr., 79, 1858-1859. (Nov.).
270. SCHULZ H. 1956. Demonstration elektronenoptischer Betunde an Alveolarepithelien.
Klin. Wschr. 34, 501.
271. SCHULZ H. 1957. Diskussionsbemerkung zu Clemens.
Anat. Anz., Erg. H. Zu 103, 199.
272. SCHULZ H. 1958. Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Länge des Siebenschläfers im Wintererschlaf und der embryonalen Rattenlunge.
Berh. dtsh. Ges. Path., 41, 342-344.
273. SCHULZ H. 1959. Die submikroskopische Anatomie und Pathologie der Lunge.
Berlin, Springer 1959.
274. SEDAR A.W.,
ROSA CH. G. 1961. Cytochemical demonstration of the succinic dehydrogenase system with the electron microscope using nitro-blue tetrazolium.
J. Ultrastruct. Res., 5, 3, 226-243.

275. SHNITKA T.,
NACHLAS M. 1963. Histochemical alterations in ischemic heart muscle and early myocardial infarction.
Amer. J. Path., 42, 5, 507-527.
276. SJÖSTRAND F. 1953. A new microtome for ultrathin sectioning or high resolution electron microscopy.
Experientia, 9, 114.
277. SJÖSTRAND F. 1953. The ultrastructure of the outer segments of rods and cones of the eye as revealed by the electron microscope.
J. Cell. and Compar. Physiol., 42, 15-70.
278. SJÖSTRAND F.,
RHODIN J. 1953. The ultrastructure of the proximal convoluted tubules of the mouse kidney as revealed by high resolution electron microscopy.
Exper. cell. res., 4, 429.
279. SJÖSTRAND F.S.,
HANZON V. 1954. Membrane structures of cytoplasm and mitochondria in exocrine cells of mouse pancreas as revealed by high resolution electron microscope.
Exp. cell. Res., 7, 393.
280. SJÖSTRAND F. 1956. The ultrastructure of cells as revealed by the electron microscope.
Intern. Rev. Cytol., 5, 455.
281. SJÖSTRAND F. 1963. Морфология упорядоченных биологических структур.
В кн.: Функц. морфология клетки. И.Л. М., 69-85.
282. SJÖSTRAND F. 1965. Критический подход к оценке картин, наблюдаемых на электронных микрофотографиях при различных способах фиксации.
В кн.: Ультраструктура и функция клетки. Из-во "Мир", М. 31-40.
283. SOROKIN S. 1960. Histochemical events in developing human lungs.
Acta Anat., 40, 105.
284. STOECKENIUS W. 1957. Golgi-Apparat und Centriol menschlicher Plasmazellen.
Frankfurt. Z. Path. 68, 404-409.

285. STOECKENIUS W.
1963. Some observations on negatively stained mitochondria.
J. Cell. Biol., 17, 443.
286. SULKIN N.M.,
JONES G. 1965. An experimental chamber for long-term studies of chronic hypoxia in small animals.
J. Appl. Physiol., 20, 346.
287. SULKIN N.,
SULKIN D. 1965. An electron microscopic study of the effects of chronic hypoxia on cardiac muscle hepatic, and autonomic ganglion cells.
Lab. Investig. 14, 1523-1546.
288. SWANN H.E. 1964. The development of pulmonary edema during the agonal period.
J. Forensic Sci., 9, 360-73.
289. TEDESCHI H. 1959. The structure of the mitochondrial membrane interferences from permeability properties.
J. Biophys. Biochem. Cytol., 6, 2, 241-252.
290. TIERNEY D.F.,
JONSON R.P. 1965. Altered surface tension of lung extracts and lung mechanics.
J. Appl. Physiol., 20, 1253-60.
291. TEKER L. 1932. Über die Kernlosen Platten in Alveolarepithelion des Lunge.
Diss. Weimar, Wagner.
292. TOKUJASHU K.,
OKAMURA S. 1959. A new method for making glass knives for thin sectioning.
J. Biophys. Bioch. 6, 2, 305-308.
293. TRUMP B.F.,
GOLDBLATT P.J.,
GRIFFIN C.,
WARAVDEKAR V.S.,
STOWELL R.E.
1963. Early alterations of mitochondria and lisosomes during in vitro necrosis. (Abstr.), Fed. Proc., 22, 312.
294. TRUMP B.F.,
GOLDBLATT P.J.,
STOWELL R.E. 1965. Studies on necrosis of mouse liver in vitro. Ultrastructural alterations in the mitochondria of hepatic parenchymal cells.
Lab. Invest., 14, 4, 343-371.
295. TRUMP B.F. 1965. Studies of necrosis in vitro of mouse hepatic parenchymal cells. Ultrastructural and cytochemical alterations of cytosomes, Cytosegrosomes, multivesicular bodies, and microbodies and their reaction to the lisosome concept.
Lab. Inves. 14, 11, 1946-68.

296. TRUMP B.F.,
BULGER R.E. 1966. New ultrastructural characteristics of cell fixed in glutaraldehyde-osmium tetroxide mixture. Lab. Invest., 15, 368-379.
297. WARTMAN W.,
JENNINGS K.,
YOKOYAMA H.,
CLABAUGH G. 1956. Fatty change of the myocardium infarction. Arch. Pathol., 62, 4, 318-323.
298. WASSERMANN N. 1954. Fibrillogenesis in the regenerating rat tendon with special reference to growth and composition of the collagenous fibrills. Am. J. Anat. 24, 399.
299. WATSON M.Z. 1955. The nuclear envelope its structure and relation to cytoplasmic membranes. J. Biophys. Biochem. Cytol., 1, 257.
300. WATSON M. 1958. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. J. Biophys. Biochem. Cytol., 4, 4, 475-478.
301. WENNER J. 1964. Idiopathisches Atemnotsyndrom der Neugeborenen. Arch. Kinderheilk., 171, 3, 209-216.
302. WISCHNITZER S. 1960. The ultrastructure of the nucleus and nucleocytoplasmic relations. Inter. rev. cytol., 10, 137-162.
303. WIERCINSKI J. 1965. Blony szkliste w blueach u niemowlat. Pediat. pol., 40, 2, 159-170.
304. WILLIAMS R. 1956. Применение замораживания-высушивания в электронной микроскопии. В сб. Применения замораживания-высушивания в биологии. ИЛ., 409.
305. WOHLFARTH-
BOTTERMANN K. 1957. Die Kontrastierung tierischer Zellen und Gewebe im Rahmen ihrer elektronen mikroskopischer Untersuchung an ultradunnen Schnitten. Naturwissenschaft, 44, 9, 287.
306. WOLFF J. 1962. Neuere Vorstellungen über die Feinstruktur der capillarwand und ihre funktionelle Deutung. Berl. Med., 2, 1932.

307. WOODSIDE G.J.,
DALTON. 1958. Ultrastructure lung tissue from
newborn and embryo mice.
J. of Ultrastruc. Res., 2, 28-
54.
308. WYCKOFF R. 1946. Freezing-drying in electron micro-
scopy.
Science, 104, 2688, 36.
309. ZEEMAN G. 1931. Histobiologie der Lungen-alveole.
Jena.
310. ZEIGER K. 1960. Probleme der Fixation in Licht- und
Electronen Mikroskopie. IV. Inter-
nat. Kongr. f. Electronenmikrosko-
pie, Berlin 1958, Bd. II, 17-27.
Springer Verlag, Berlin, Göttingen,
Heidelberg.
311. ZWEIFACH B.W., 1955. Structural make up of capillary
wall.
Ann. N.Y. Acad. Sci., 61, 670.
- ~~312. ХАРРИС Д.,
МИХИ Д.,
МИУР А.,
РОБЕРТС К.,
УОКЕР П. 1967. Введение в молекулярную биологию.
II.~~