

Результаты ПУВА-терапии больных с дерматозами

Диагноз	Число больных	Клиническое выздоровление	Значительное улучшение	Улучшение	Без эффекта	Осложнения
Псориаз						
прогрессивная стадия . . .	54	43	5	3	3	6
стационарная стадия . . .	31	22	4	3	2	5
экссудативная форма . . .	19	15	2	2	—	3
эритродермия	16	11	3	1	1	1
артропатия	5	4	—	1	—	1
Диффузный нейродермит	9	4	2	1	2	3
Узловатая почесуха . . .	2	2	—	—	—	1
Грибовидный микоз . . .	2	2	—	—	—	—
Витилиго	2	2	—	—	—	—
Эритродермия Вильсона —						
Брока	1	—	—	—	1	—
Всего	141	105	16	11	9	24

Положительный эффект ПУВА-терапии (клиническое выздоровление, значительное улучшение, улучшение) у больных с псориазом был отмечен в 95,2% случаев. Ремиссия продолжалась в среднем 12—20 мес. У больных с другими дерматозами фотохимиотерапия оказалась эффективной в 81,3% случаев, неэффективной — в 18,7%.

Таким образом, фотохимиотерапия указанных дерматозов обладает высокой результативностью, хорошей переносимостью, отсутствием серьезных осложнений в процессе лечения, причем исключается мазевая терапия и возникает возможность лечения больных в амбулаторных условиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабаянц Р. С., Владимиров В. В., Куликова Е. П. и др. Вестн. дерматол., 1980, 10.—2. Довжанский С. И., Шерстнева В. Н. Там же, 1983, 2.—3. Ибрагимов А. Г. Светолечение. Казань, 1976.—4. Каламкарян А. А. Вестн. дерматол., 1979, 1.—5. Шахтмейстер И. Я., Казанцева И. Я., Каламкарян А. А. и др. Там же, 1980, 4.

Поступила 5 ноября 1984 г.

УДК 576.851.232—02:576.8—093.1

ВЛИЯНИЕ НЕЙССЕРИЙ НА МИТОТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК

Г. Р. Газизова, О. П. Галеева, Г. И. Рузаль

Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии (директор — проф. В. И. Курочкин)

Способность менингококков проникать в клетки при заражении клеточной культуры и вызывать в них дегенеративные изменения [2—4] побудила нас подробнее исследовать взаимодействие нейссерий с клеткой, поскольку таких работ в доступной литературе мы не встретили.

Целью настоящей работы являлось изучение влияния разных штаммов диплококков из семейства Neisseriaceae, отличающихся по цитопатогенности, а также их дериватов на митотический режим культуры клеток FL.

Использовали суточные монослойные культуры клеток перевиваемого амниотического эпителия человека линии FL на покровных стеклах. Для инфицирования клеток брали смывы на физиологическом растворе (рН 7,2—7,4) 16—18-часовой культуры нейссерий с сывороточного агара Мартена—Хоттингера в концентрации 40 Ед по оптическому стандарту мутности в объеме 0,4 мл (доза $16 \cdot 10^8$ микробных тел).

Цитопатогенность штаммов оценивали по величине ЦПД₅₀ и по цитопатогенному эффекту (ЦПЭ) в ответ на две дифференцирующие дозы. Высокоцитопатогенными считали штаммы с ЦПД₅₀ до $5,0 \cdot 10^8$, среднецитопатогенными — от $5,1 \cdot 10^8$ до $10 \cdot 10^8$, ацилопатогенными — более $10 \cdot 10^8$. При испытании дифференцирующих доз высокоцитопатогенные штаммы вели к гибели 75—100% клеток (3+, 4+) в ответ на дозу $8 \cdot 10^8$, среднецитопатогенные — 25—50% клеток (1+, 2+), ацилопатогенные не вызывали ЦПЭ. В ответ на вторую пороговую дозу ($2 \cdot 10^8$) все штаммы, как правило, не давали ЦПЭ. Для работы из 202 изученных штаммов менингококков и 115 штаммов

непатогенный нейссерий отобрали представителей с высокой цитопатогенностью: эталонные штаммы менингококков группы С (№ 13102), группы В (№ 13090), свежeweделенные — группы А (№ 47), С (№ 46 и 1305) и эталонный штамм *N. perflava* (№ 52), а также слабоцитопатогенные штаммы — свежeweделенный штамм менингококка группы А (№ 151) и *N. sicca* (№ 253).

Помимо живых возбудителей изучали их фильтраты, центрифугаты, убитые автоклавированием культуры, антигены менингококков, полученные по Грассе, менингококковую полисахаридную вакцину, предоставленную нам М. А. Смирновой-Мутушевой (МНИИЭМ им. Габричевского), белковый комплекс аллергена *N. perflava*, выделенный в нашем институте В. М. Лукашковым. Для получения центрифугатов микробную взвесь (40 Ед, 20 Ед) центрифугировали при 5000 об./мин в течение 2 ч. Фильтраты получали путем фильтрования взвеси менингококков через четырехслойный миткалевый фильтр, бактериологические свечи Ф-5 (с максимальным диаметром пор 1,67 мкм) или через стеклянные фильтры G-3 и G-4. Для получения убитой культуры менингококки автоклавировали при 110° в течение 30 мин. Антигены по Грассе получали путем 10-кратного замораживания в жидком азоте и оттаивания взвеси менингококков (40 Ед) и хранили при -5°С. Препараты сухой полуочищенной менингококковой полисахаридной вакцины группы А, очищенных вакцин групп А и С (хранившихся до исследования в морозильной камере) разводили в физиологическом растворе и вносили в культуру клеток в дозах 220, 125, 110 и 65 мкг/мл. Аллергены *N. perflava* вносили в культуру клеток в дозах, соответствующих 1, 2, 3 кожным дозам аллергена. В одной кожной дозе содержится 500 PNU. Объем инокулята во всех случаях равнялся 0,4 мл. Выемки препаратов делали через 30 мин, 3, 6, 24 ч инкубации при 37°. Фиксировали метанолом и окрашивали по Фельгену. Для оценки митотической активности (МА) определяли митотический индекс, то есть количество делящихся клеток на 1000 просмотренных. Проводили анализ соотношения фаз митоза (в %) с определением коэффициента фаз, то есть отношения ранних фаз (профазы+метафазы) к поздним (анафазы+телофазы). Патологические формы митозов анализировали на основе классификации И. А. Алова (1972).

Изменение митотических показателей в культуре клеток происходит уже в первые часы после заражения клеток и связано с внедрением менингококков в клетку. Через 30 мин после заражения, когда основная масса менингококков находится на этапе адгезии, митотический режим не нарушается и патологические митозы отсутствуют. Первые морфологические изменения происходят на фоне увеличения МА всего монослоя клеток, однако в интактных контрольных клетках аналогичное явление отсутствует. В делящихся клетках, в отличие от интерфазных, через 1,5 ч контакта менингококков с клетками появляются патологические метафазы и реже поздние профазы с отеком и слипанием хромосом. У значительной части клеток к этому сроку происходит активная инвазия менингококков, которая достигает максимума к 3—6 ч, вызывая гибель части клеток. У незначительной части телофаз отмечены явления комкования набухших хромосом. На ранних сроках наблюдения МА зараженных клеток увеличивается в 2 раза к 1,5 ч и в 6 раз — к 6 ч по сравнению с контролем. Процент патологических митозов к 6 ч увеличивается до 88,4. К этому сроку учащаются телофазы с агрегированными хромосомами, встречаются дегенеративные митозы с распадом хроматинового вещества (кариорексис). Коэффициент фаз после подъема на ранних сроках снижается за счет преобладания телофаз.

При наличии высокоцитопатогенных штаммов менингококков к концу инфекционного процесса (24 ч от момента заражения) МА клеточной культуры снижается за счет гибели основной массы клеток и к моменту развития 100% цитопатического эффекта сводится к нулю. На данном сроке наблюдения наиболее полно представлена картина поражения хромосомного аппарата, приводящего к гибели клетки. По-видимому, это обусловлено тем, что основная часть клеток монослоя к указанному времени завершает свой второй (от момента посадки клеточной взвеси) митотический цикл и оказывается чувствительной мишенью для менингококков. Поэтому большинство делящихся клеток находится в состоянии дегенеративных метафаз, телофаз и больных дочерних клеток, у которых хромосомные нарушения достигли максимума и несовместимы с жизнью. В единичных уцелевших интерфазных клетках таких изменений не выявлено. Слабоцитопатогенные штаммы менингококков характеризуются той же динамикой нарушения митотической активности и наличием патологических митозов, но в гораздо меньшей степени. К 24 ч наблюдения монослой сохраняется за исключением единичных поврежденных клеток, у которых отмечены те же патоморфологические изменения ядра.

Патоморфологические изменения, приводящие к ЦПЭ, были одинаковыми при заражении всеми испытываемыми цитопатогенными нейссериями независимо от их видовой и серогрупповой принадлежности.

Центрифугирование при обычных скоростях и на ультрацентрифуге, а также фильтрация через миткалевый и стеклянные фильтры и получение антигена по Грассе не позволяли полностью освободиться от менингококков: в высевах на сывороточном агаре наблюдался типичный рост менингококковой культуры, менее интенсивный по сравнению с ростом исходной. В культуре клеток эти препараты оказывали соответственно слабое цитопатогенное действие по сравнению с контрольной исходной взвесью менингококков. Фильтрат живой менингококковой культуры (свечи Ф-5) и

Цитопатогенность разных препаратов из микробных клеток

Нейс- серии	Препарат	Способ получения	Высеваемость нейссерий после обработки	ЦПЭ, доза 16·10 ³	
				опыт	контроль*
менингококки групп А (№ 47), С (№ 1305, 13102), В (№ 13090)	Фильтрат	фильтрация через миткалевый фильтр стеклянный фильтр свечу Ф-5	сливной рост сливной рост нет роста	2+ 2+ —	4+ 4+ 4+
	Центрифугат	центрифугирование при 5000 об./мин при 9000 об./мин при 20000 об./мин	сливной рост сливной рост десятики колоний десятики — сотни колоний	3+ 2+ 1+ 2+	4+ 4+ 4+ 4+
	Антиген по Грасе	—	—	—	—
	Убитая культура менингококка (шт. 47)	—	—	—	—
	Полисахаридная менингококковая вакцина МНИИЭМ	автоклаивирование полученная группы А очищенная группы А очищенная группы С	стерильно стерильно стерильно стерильно	— — — —	4+ — — —
непатогенные нейссерии	Аллерген	с. 8. 1 кожная доза	стерильно	—	4+**
	N. perflava	с. 8. 2 кожные дозы	стерильно	—	4+
		с. 8. 3 кожные дозы	стерильно	4+	4+
		с. 10. 1 кожная доза	стерильно	1+	4+
		с. 10. 2 кожные дозы	стерильно	3+	4+
		с. 10. 3 кожные дозы	стерильно	4+	4+

Примечание. * — исходные необработанные живые менингококковые культуры, относящиеся к высокоцитопатогенным штаммам. ** — исходная культура штамма-продуцента N. perflava, относящегося к высокоцитопатогенным штаммам.

убитая автоклаивированием культура менингококков, свободные от живых микробных клеток, и полисахаридные менингококковые вакцины, в отличие от исходных живых культур, не вызывали цитопатогенного эффекта. Внутриклеточные белковые комплексы аллергена N. perflava при внесении 2 и 3 кожных доз обладали, как правило, выраженным цитотоксическим эффектом, как и исходный штамм-продуцент N. perflava (№ 52). При этом так же, как и в случае с высокоцитопатогенными штаммами менингококков, наблюдались снижение митотического индекса культуры клеток и те же патологические формы митозов, достигавшие 100% к 24 ч после заражения.

Таким образом, цитопатогенное действие нейссерий обусловлено прежде всего непосредственным действием живых возбудителей и тесно связанных с ними цитотоксических метаболитов. Отсутствие цитотоксического эффекта от убитой автоклаивированием культуры и ультрафильтрата высокоцитопатогенных штаммов менингококков, по-видимому, свидетельствует о слабой роли эндотоксина. Поскольку аллерген N. perflava — препарат, полученный по Андо—Вержиковскому, представляет собой внутриклеточный белковый комплекс микробных тел, то и цитотоксический эффект, вызываемый препаратом, обусловлен данным комплексом в отличие от ацитопатогенной полисахаридной менингококковой вакцины, не содержащей белковых компонентов микробной клетки. Тем не менее и в этом случае выявлялись единичные повреждения клетки с теми же формами патологических митозов. Поскольку менингококки обнаруживались только в цитоплазме клетки и не проникали в ядро, можно полагать, что нарушения ядерного аппарата инфицированной клетки, наступающие во время деления, обусловлены токсическими продуктами нейссерий, которые поражают хромосомный аппарат после исчезновения ядерной оболочки в профазе.

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что в основе ЦПЭ менингококков и других цитопатогенных нейссерий лежит внутриклеточная инфекция. Гибель делящихся клеток происходит в результате необратимого повреждения ядерного аппарата. Одновременно в культуре клеток имеет место разрушение интерфазных клеток под влиянием массивной инвазии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алов И. А. Цитофизиология и патология митоза. М., Медицина, 1972.
2. Газизова Г. Р., Рузаль Г. И., Галеева О. П. В кн.: Менингококковая инфекция. Труды ин-та Пастера. Л., 1980, т. 54.— 3. Дударева В. В. В кн.: Менингококковая инфекция. Сб. науч. работ Ленингр. сан.-гиг. мед. ин-та, 1978.— 4. Рузаль Г. И., Галеева О. П., Шамсутдинова М. С. и др. Казанский мед. ж., 1982, 4.

Поступила 17 апреля 1984 г.