

Отдел II. Обзоры, рефераты, рецензии и пр.

Из Отделения Экспер. Биологии и Медицины (зав. проф. А. А. Крон-товский) Киевского Бактериологического Института.

Изучение туберкулезного бугорка при помощи тканевых культур.

Н. И. Вылегжанина (Казань).

В последнее время были сделаны интересные попытки изучить взаимодействие между тканевыми элементами и туберкулезными палочками с помощью метода тканевых культур. Целью этих работ, опубликованных главным образом в американской, отчасти в немецкой и русской медицинской печати, было выяснение спорных и темных вопросов о гистогенезе клеточных элементов, составляющих туберкулезный бугорок. Как известно, в этой области до последнего времени существуют значительные расхождения между взглядами отдельных исследователей. Даже в проблеме гистогенеза эпителиоидных клеток бугорка, которым Максимов придает центральное значение, с первых лет изучения морфологии туберкулезных поражений существует много противоречивых мнений: в то время, как Conheim, R. Koch, Мечников и др. приписывали этим клеткам исключительно гэматогенное лейкоцитарное происхождение, другие, как Baumgarten и Orth, рассматривали их только, как потомков фиксированных местных тканевых элементов. Исследования последнего времени, во первых, сгладили исключительность обоих взглядов, а во-вторых, более детально выяснили участие отдельных клеточных элементов в этом процессе.

Еще в девятисотых годах Максимов, изучая неспецифические формы воспаления, высказал взгляд, что эпителиоидные клетки бугорка представляют просто специальный тип полибластов; этим самым он приписывал им отчасти гэматогенное происхождение—из моноцитов и лимфоцитов, а отчасти местное—из блуждающих клеток соединительной ткани. Другие авторы, изучавшие этот вопрос в последнее время, приписывали различным тканевым элементам способность превращаться в эпителиоидные клетки: для соединительной ткани—фибробластам, в легочной паренхиме—альвеолярному эпителию и эндотелию капилляров, с возникновением же учения о ретикуло-эндотелиальной системе было обнаружено много фактов, говорящих за видное участие в этом процессе клеточных ее элементов.

В отношении происхождения гигантских клеток определенно признано, что единственным источником их являются эпителиоидные клетки, но в отношении способа их происхождения существует много неясного, и мнения исследователей противоречивы. Более принято думать, что образование гигантов Langhans'a является результатом amitotического, а в некоторых случаях и mitotического деления ядер без последующего деления гипертрофированной протоплазмы эпителиоидных клеток; меньшим признанием пользуется возможность простого слияния отдельных эпителиоидных клеток для образования гигантских.

Метод тканевых культур, устраняя из опыта все усложняющие влияния, исходящие от окружающих органов и от организма, как целого, а особенно исключая вмешательство гэматогенных элементов, представляется идеальным для разрешения поставленного выше вопроса. Далее, изменения, наблюдаемые в тканевых культурах, могут быть легко изучаемы как непосредственно в живом состоянии, так и после соответствующей гистологической обработки. Кроме того, гистогенез почти всех клеточных элементов, встречающихся в тканевых культурах, служив-

ших для опытов с заражением, давно уже точно известен. Это тоже значительно облегчает разрешение поставленной задачи.

Не останавливаясь подробно на методике, применявшейся различными авторами, мы отметим только, что различными исследователям для приготовления тканевых культур служили следующие органы молодых или взрослых кроликов: лимфатические узлы, селезенка, легкие, большой сальник, межмышечная клетчатка и чистые культуры белых кровяных шариков кролика. Приготовленные из этих органов тканевые культуры заражались туберкулезными палочками, причем Максимов (Chicago) употреблял палочки *t. humanus* двоякого рода: одни с высокой вирулентностью, другие—с низкой вирулентностью и быстрым ростом. Тимофеевский и Беневоленская (Томск) брали для заражения палочки *t. humanus* с малой вирулентностью, но большой токсичностью. Максимов наблюдал, что палочки первого рода слабо росли в среде, служившей для культивирования (плазма с костно-мозговым экстрактом), быстро фагоцитировались и разрушались, так что культура в конце концов самоочищалась; палочки же второго рода росли быстро.

Несмотря на некоторые биологические различия служивших для опытов туберкулезных палочек, а также на их различное поведение в среде, употреблявшейся для культивирования, качественная реакция со стороны клеточных элементов, в общем, всеми авторами описывается одинаково. В первое время в зараженных, как и в обычных (не зараженных) культурах, напр., из лимфатических узлов, наблюдается обильная эмиграция клеток из посаженного кусочка в окружающую среду. И тогда уже можно бывает отметить, что эмигрирующие клетки, главным образом ретикулярные, полибласты, приходя в соприкосновение с туберкулезными палочками, обильно их фагоцитируют. При этом Максимов со стороны фагоцитов отмечает избирательное движение в сторону колоний палочек. При попадании последних внутрь посаженного кусочка происходит поглощение их еще не освободившимися из экскантата ретикулярными клетками. Одновременно с фагоцитозом Максимов отмечает появление митозов в ретикулярных клетках и особенную их гипертрофию, касающуюся главным образом их ядра и клеточного центра. Такое изменение имеет место не только в ретикулярных клетках, фагоцитировавших палочки, но и тех, которые совсем не приходили в соприкосновение с последними. По мнению Максимова это явление обусловлено «специфическим химическим стимулом, образующимся в туберкулезных палочках». Измененные таким образом гипертрофированные ретикулярные клетки Максимов вполне идентифицирует с эпителиоидными клетками бугорков в организме.

Лимфоциты в зараженных культурах, подобно обычным, частично погибают, но большая часть их, по наблюдениям Максимова, принимает активное участие в разыгрывающихся явлениях, а именно, они собираются в местах скопления ретикулярных клеток, гипертрофируются и размножаются, принимая сначала вид полибластов, а затем—эпителиоидных клеток, одинаковых с вышеописанными клетками ретикулярного происхождения. Уже неизменные лимфоциты иногда содержат в своей протоплазме туберкулезные палочки, если же лимфоциты превращаются в полибласты, а затем в ретикулярные клетки, то они начинают интенсивно фагоцитировать. Фагоцитированные различного рода гипертрофированными клетками палочки, по наблюдениям всех авторов, определенно подвергаются внутриклеточному разрушению и перевариванию. На месте их Максимов наблюдал иногда в клетках образование особого пигмента, принимавшего после окраски фуксин-гематоксилин-эозин-азуром золотисто-желтоватый цвет. С другой стороны Максимов описывает *внутриклеточное размножение палочек*, в результате которого клетка целиком может быть ими набита. Несмотря на это, такие клетки часто не проявляют каких-либо признаков некробиоза; наоборот, они могут совершать *интенсивные амебoidные движения и митотически делиться*, причем палочки равномерно распределяются во вновь образованных клетках. Тимофеевский и Беневоленская в таких клетках наблюдали также амитотическое деление. Все эти наблюдения совершенно опровергают старое предположение, что клетки, захватившие туберкулезные палочки, не могут делиться и подвергаются некрозу под влиянием их.

Со стороны вышеописанных клеточных элементов в зараженных культурах наблюдается своеобразная способность собираться в отдельные группы или скопления, что не свойственно элементам обычных культур. Центром таких клеточных скоплений очень часто являются кучки палочек, хотя последнее и не обязательно. В культурах нередко можно наблюдать—как в живом состоянии, так и на сре-

зах—подобные скопления клеток в отдалении от палочек. Главную массу этих скоплений составляют эпителиоидные клетки различного происхождения. К ним могут быть примешаны лимфоциты, находящиеся в разных стадиях изменений. Клетки этих скоплений содержат в своей протоплазме различные количества палочек. Такие скопления, по заявлению авторов (Максимов, Тимофеевский и Беневоленская), вполне аналогичны бугоркам, образующимся в животном организме. Аналогия эта еще больше дополняется тем, что в зараженных культурах, как правило, всегда наблюдается образование гигантских клеток типа Langhans'a. Правда, нередко и в незараженных культурах встречается образование гигантских клеток, но там это носит более случайный и менее постоянный характер. Начало образования гигантских клеток Максимов мог наблюдать уже на 4—6-й день после заражения культур палочками. Источником этого служат, по Максиму и Тимофеевскому с Беневоленской, главным образом ретикулярные клетки, подвергшиеся дальнейшим изменениям, превратившиеся в полибласты и эпителиоидные клетки, причем, по Максиму, все три разновидности этих клеток могут непосредственно давать начало гигантским клеткам. Кроме того указанный автор наблюдал еще, что и лимфоциты могут быть источником образования гигантских клеток. Превращение это происходит или после того, как лимфоциты доразвились уже до стадии эпителиоидных клеток, или когда они еще находятся в стадии молодых полибластов. Главным, а по Максиму даже единственным способом происхождения гигантских клеток является *слияние друг с другом отдельных, только что указанных клеток*. Это происходит таким образом, что несколько тесно лежащих клеток, часто окаймляющих кучки бактерий, начинают постепенно терять границы своей протоплазмы и образуют в конце концов одну общую протоплазматическую массу со включенными в ней палочками. По Максиму, после слияния происходит еще внутренняя реорганизация такой клетки, а именно, клеточные центры отдельных клеток сливаются между собой, занимая в тоже время центральную часть новой клетки: ядра перемещаются на периферию, а фагоцитированные палочки располагаются в свободной краевой зоне протоплазмы. После этого клетка принимает типичный вид гигантской Langhans'овской клетки. Тимофеев и Беневоленская указывают, что иногда им приходилось наблюдать и другой способ образования гигантских клеток—образование их через прямое деление ядер без последующего разделения гипертрофированной протоплазмы.

Участие других клеточных элементов (фибробластов и эндотелия) в описанных выше процессах, в общем, невелико. Превращение их в полибласты и эпителиоидные клетки Максимов совершенно отрицает. Им отмечено только со стороны этих элементов возвращение к более недифференцированному эмбриональному состоянию под влиянием туберкулезной инфекции.

Начиная с 7-го дня, в зараженных культурах наблюдаются очаги некрозов, расположенные обычно в центре туберкулезных образований. В таких местах клетки постепенно принимают гомогенный вид и содержат в своей протоплазме различные количества жировых капелек, палочек и пигментных включений. Постепенно ядра таких клеток разрушаются путем кариорекексии или кариолизиса, и участок принимает зернистый вид. Максимов в такие очаговые некрозы вполне отождествляет с казеозным перерождением бугорков в организме.

Прежде, чем остановиться на опытах с тканевыми культурами из легочной паренхимы, нужно отметить, что Lang (из лаборатории Максимова в Chicago), работая над вопросом о гистогенезе респираторного эпителия и альвеолярных фагоцитов, пришел к выводу, что последние по своим морфологическим и функциональным свойствам вполне соответствуют амебодно-подвижным гистиоцитарным элементам других тканей, напр., ретикулярным клеткам лимфоаденоидной ткани. По своему происхождению эти клетки до сих пор считались потомками альвеолярного эпителия. Но последний, по исследованиям Lang'a, происходит из особых клеток, располагающихся главным образом в перегородках альвеол (Septumzellen, Staubzellen Lang'a), а эти последние, как, следовательно, альвеолярный эпителий и свободные фагоциты, должны быть отнесены по своей натуре к элементам ретикуло-эндотелиальной системы. В дальнейшем, для упрощения изложения, мы и будем пользоваться этими данными.

В зараженных туберкулезными палочками тканевых культурах из легочной паренхимы, как показали исследования Lang'a и Тимофеевского с Беневоленской, со стороны Septumzellen и происходящих из них свободных альвеолярных фагоцитов (по Тимофеевскому и Беневоленской—со

стороны альвеолярного эпителия) наблюдаются активные изменения, по существу совершенно аналогичные тем, которые были наблюдаемы в культурах из лимфоаденоидной ткани. Названные клетки, обильно эмигрируя в окружающую плазму, активно фагоцитируют и разрушают туберкулезные палочки, затем гипертрофируются и превращаются в эпителиоидные клетки с образованием подобных бугоркам скоплений и их казеозным распадом. Тимофеевский и Беневоленская в своих культурах наблюдали образование гигантских клеток из эпителиоидных. Все эти изменения касаются равномерно зараженной культуры в целом, вне зависимости, приходят отдельные ее части в соприкосновение с палочками, или нет. Lang, подобно Максимова, объясняет это явление влиянием происходящих из туберкулезных палочек токсинов и продуктов распада, равномерно распространяющихся по всей культуре. Описанные изменения в зараженных культурах легкого Lang считает вполне возможным рассматривать, как продуктивную форму реакции. К этому же порядку он относит превращение части неиспользованных Septumzellen в перегородках сохранившихся альвеол в особую ткань, имеющую характер эмбриональной мезенхимы. Помимо продуктивного типа реакции, Lang часть изменений, наблюдавшихся в его опытах, считает возможным признавать аналогичными эксудативному процессу в легочной паренхиме. В этих случаях просветы сохранившихся альвеол посаженного кусочка были заполняемы крупными, сферическими клетками (exudate-cells), интенсивно фагоцитировавшими палочки. По происхождению они вполне одинаковы с вышеописанными альвеолярными фагоцитами. Кроме всего этого, все авторы отмечают задерживающее влияние туберкулезной инфекции на рост фибробластов в зараженных культурах легкого.

Таким образом, по Lang, в зараженных туберкулезными палочками тканевых культурах из легочной паренхимы наблюдаются такие же два типа реакции (продуктивная и эксудативная), как и в животном организме.

В тканевых культурах из сальника и межмышечной соединительной ткани, подвергавшихся заражению туберкулезными палочками, Максимова получил совершенно одинаковое по существу с вышеописанным развитие процесса, в котором принимали участие только местные тканевые элементы—гистиоциты или, по Максимова, покоющиеся блуждающие клетки.

Все вышеописанные исследования определенно выявляют роль и значение местных тканевых элементов в развитии туберкулезного бугорка. Вместе с тем исследование, главным образом Максимова, показывают, что немалое значение в этом отношении принадлежит лимфоцитам, обладающих скрытой потенцией превращения в амебOIDно-подвижные и фагоцитирующие элементы. Из опытов с заражением туберкулезными палочками чистых культур белых к ованых штриков с особой демонстративностью выявляют значение незрелых лейкоцитов в развитии туберкулезного бугорка. Оказывается, что моноциты и лимфоциты в одинаковой степени подвергаются, под влиянием туберкулезной инфекции, тем же характерным изменениям, которые происходят, при заражении, с ретикулярными клетками лимфоаденоидной ткани или с фагоцитами легочной паренхимы в тканевых культурах. Эти опыты, по мнению Максимова, не оставляют сомнения в том, что моноциты, равно как и лимфоциты, являются источником образования одноядерных фагоцитирующих элементов на поле воспаления вообще и в туберкулезном бугорке в частности. Американские исследователи M. Lewis, H. Willis и W. Lewis, работавшие над этим же вопросом, наблюдали в культурах из белых кровяных шариков превращение моноцитов в эпителиоидные клетки.

Таким образом вышеизложенные исследования дают определенный ответ на вопрос о происхождении эпителиоидных клеток бугорка: источником их являются только элементы ретикуло-эндотелиальной системы, широко разбросанные по всему организму и в зависимости от своего местоположения принимающие различный морфологический вид. В общем, однако, им всем свойственно активно участвовать как в специфических, так и неспецифических воспалительных процессах. И образование туберкулезного бугорка есть только частный случай проявления ими этого свойства. Кроме того, на основании прежних и только что рассмотренных исследований Максимова определенно утверждает, что и лимфоциты, как циркулирующие в крови, так и разбросанные в тканях вне сосудов, обладают способностью превращаться при воспалительных процессах в блуждающие фагоцитирующие элементы, совершенно одинаковые с таковыми же, происходящими из ретикуло-эндотелиальной системы. В подтверждение последнего Максимова указывает на близкое генетическое родство лимфоцитов с элементами ретикуло-

эндотелиальной системы, что он наблюдал в своих специальных исследованиях по данному вопросу. Далее опыты Максимова ясно показали, что клетки, фагоцитировавшие туберкулезные палочки, не только могут не подвергаться некрозу, но могут в этом состоянии размножаться путем митотического деления. Максимовым же в тканевых культурах было отчетливо прослежено образование гигантских клеток путем слияния друг с другом эпителиоидных клеток, или клеток, служащих источником для их происхождения, и таким образом выяснен и этот, прежде бывший спорным, вопрос.

ЛИТЕРАТУРА:

- 1) А. Максимов (Chicago). Tuberculosis of mammalian tissue in vitro. Journ. of Infect. Diseases, v. 34, № 6, 1924.—2) Он же. Role of the nongranular blood leucocytes in the formation of the tubercle. Ib. v. 37, № 5, 1925.—3) Он же. The histogenesis of the tubercle. Trans. of the Twenty-first An. Meeting of the Nat. Tuberc. Assoc., 1925.—4) Lang (Chicago). Ueber Gewebeskulturen d. Lunge. Arch. f. exp. Zellforschung, Bd. II.—5) Он же. The reaction of lung tissue to tuberculosis infection in vitro. Journ. of Inf. Diseases., v. 37, № 5, 1925.—6) M. Lewis. H. Willis a. W. Lewis. The epithelioid cells of tuberculous lesion. Bull. of the j. H. Hosp., v. XXXIV, № 3, 1925.—7) Д. Тимофеевский и С. В. Беневоленская. Опыты эксплантации тканей в среде, содержащей туберкулезные бактерии. Томск, 1925.—8) Они же. Explantationsversuche von weissen Blutkörperchen mit Tuberkelbazillen. Arch. f. exp. Zellforschung, Bd. II, H. 1, 1925.—9) Они же. Zur Frage über die Reaction von Gewebeskulturen auf Tuberkuloseinfektion. Virchow's Archiv, Bd. 255, H. 3.

Рефераты.

а) Физиология.

551. Антагонизм между *pancreas* и щитовидной железой, по опытам и наблюдениям Lundberg'a (Acta med. Scand., vol. LXIV, f. IV—V), несомненно существует. Отсюда есть основание испробовать инсулин, с терапевтической целью, при некоторых заболеваниях щитовидной железы, особенно тех, которые сопровождаются ее гиперфункцией. В. С.

552. Влияние внутренней секреции на вещества, стимулирующие рост организма, изучал Uchida (Berich. ii. d. ges. Gyn., Bd. X). Тканевые культуры (сердце куриного зародыша 8—13 дней) помещались в кровяную плазму нормальной курицы, нормальных кроликов и кроликов, лишенных щитовидной, зубной и половых желез. Измерение роста культур производилось через 24, 48 и 72 часа при помощи специального окулярного микрометра. Сравнение производилось всегда с плазмой одного и того же животного до и после операции. Оказалось, что рост культур в плазме животных, лишенных щитовидной и зубной желез, заметно задерживается. Удаление одной зубной железы оказывает очень слабое влияние на этот рост, а удаление яичников остается совсем без влияния на этот последний. А. Тимофеев.

553. Зависимость фагоцитоза от внутренней секреции изучали Ascher и Abu (по Berich. über d. ges. Gyn., Bd. X, H. 14/15). Лейкоциты получались из экссудата, вызванного у кролика стерильной инъекцией алейроната, и подвергались действию сывороток различных животных. Оказалось, что удаление щитовидной железы, селезенки, яичников и яичек понижает фагоцитарную способность лейкоцитов. Сильнее всего в этом отношении действует тиреоидэктомия, слабее всего устранение яичек. При одновременном удалении щитовидной железы и яичников или щитовидной железы и селезенки действие оказывается более энергичным, чем при удалении этих органов в отдельности. Этому целлюлярному моменту конституции приписывается авторами более серьезное значение, чем изменениям сыворотки. А. Тимофеев.