

Обнаруженные нами морфофункциональные признаки снижения активности эпифиза у онкологических больных подтверждают данные о вовлечении шишковидной железы в процесс опухолевого роста [8]. По мнению М. Н. Остроумовой и соавт. (1976) и В. М. Дильмана (1978), эпифиз является одним из регуляторов чувствительности гипоталамуса к гомеостатическим воздействиям. Резюмируя изложенное, следует заключить, что морфофункциональные признаки ослабления деятельности эпифиза могут способствовать нарушению функции гипоталамо-гипофизарной системы у онкологических больных и таким образом влиять на состояние стероидного гомеостаза и течение заболевания.

## ВЫВОДЫ

1. Изменения, наступающие в эпифизе при раках, аналогичны инволютивным, однако наблюдаются у лиц более молодого возраста (40 — 49 лет).
2. При раке функциональная активность эпифиза прогрессивно снижается.
3. Глубина изменений эпифиза от локализации опухоли не зависит, а определяется в основном стадией, длительностью заболевания и возрастом больных.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Анисимов В. Н. *Вопр. онкол.*, 1980, 8.— 2. Дильман В. М. *Физиол. человека*, 1978, 4.— 3. Медведев Ю. А. В кн.: *Научные труды Ленинградского ИУВ*, Л., 1970, вып. 100.— 4. Остроумова М. Н., Анисимов В. Н., Сыромятников А. А., Дильман В. М. *Вопр. онкол.*, 1976, 9.— 5. Чазов Е. И., Исаченков В. А. Эпифиз: место и роль в системе нейроэндокринной регуляции. М., Наука, 1974.— 6. Collin J. P. *Progress Brain Res.*, 1979, 52.— 7. Kappers J. A. In: *Pineal organ. Proc. 2 Colloq. Eur. Pineal Study Group*, Gissen, 1981, Amsterdam et al. 1981.— 8. Lapin V., Frowein A. J. *Neural Transm.*, 1981, 52, 1.— 9. Pico J., Mathe G. *Cancer Treatment Rep.*, 1979, 6317.

Поступила 18 ноября 1983 г.

УДК 616.931—097.29:611—018.825:578.085.23

## НАРУШЕНИЯ МИТОЗА ПРИ ДИФТЕРИЙНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Г. Р. Газизова

Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии (директор — канд. мед. наук Т. А. Башкирев) МЗ РСФСР

В обширной литературе по патоморфологии дифтерии сведений о влиянии дифтерийного токсина на митоз в поражаемых тканях мы не обнаружили. Лишь в одной из работ, посвященных описанию цитотоксического действия токсина на культуру тканей, отмечено исчезновение фигур митоза в интоксигированной клеточной культуре [5].

В предыдущих исследованиях нами было показано, что дифтерийный токсин является митотическим ядом, и высказано предположение о том, что гибель клеток под его воздействием происходит в состоянии деления. Появлению цитотоксического эффекта предшествует значительное нарастание патологических форм митоза и снижение митотической активности до нуля, при этом цитотоксический эффект развивается по мере вступления клеток в митоз [2а, б].

Целью настоящей работы являлось цитоморфологическое исследование нарушений митоза, возникающих при действии дифтерийного токсина на культуру клеток.

В опытах использовали высокочувствительную к токсину культуру клеток переливального амниотического эпителия линии FL человека. Монослойную культуру клеток в пенициллиновых флаконах с кровными стеклами выращивали общепринятым способом на среде 199 с 10% сыворотки, полученной от крупного рогатого скота и с антибиотиками — пенициллином (100 ЕД./мл) и стрептомицином (50 ЕД./мл). Перед опытом на однослойной монослойной культуре ростовую среду заменяли поддерживающей (среда 199 без сыворотки и антибиотиков).

Модель дифтерийной интоксикации односуточного монослоя клеток линии FL воспроизводили высокоочищенным кристаллическим препаратом дифтерийного токсина высокой биологической активности. В 1 мл препарата содержалось 240 флюккулирующих единиц (Lf) токсина, 14300 смертельных доз для морской свинки и

$4 \cdot 10^6$  цитотоксических доз (ЦТД<sub>50</sub>). В качестве единицы измерения активности токсина использовали ЦТД<sub>50</sub>, то есть дозу, вызывающую гибель 50% клеток моно-слоя к 72 ч интоксикации. Испытывали дозы токсина, равные 0,4, 1, 4, 100 и 1000 ЦТД<sub>50</sub>. Поставлено 7 опытов с 3 — 4-кратным испытанием каждой дозы. Наблюдения вели через 1, 3, 6, 18, 24, 48 и 72 ч инкубации клеточной культуры с токсином при 37°, делая выемки препаратов опытных и контрольных культур клеток на покровных стеклах. Препараты фиксировали метанолом или по Карнуа в течение 5 мин и окрашивали гематоксилин-эозином, затем заключали в балъзам.

Для цитоморфологического изучения действия дифтерийного токсина на митоз просмотрено и проанализировано под микроскопом более 255 тыс. клеток на 138 препаратах культур клеток. Определяли влияние токсина на митотический индекс, соотношение фаз митоза, патологические формы митозов по классификации И. А. Ало-ва (1972) и степень цитотоксического эффекта. Материалы обработаны статистически ( $P < 0,01$  и  $P < 0,001$ ).

Анализ митотической активности контрольных клеток по митотическому индексу показывает, что монослойная клеточная культура FL после смены ростковой среды на поддерживающую за 72 ч прodelывает два клеточных (жизненных) цикла. Пер-вый цикл с максимумом митозов на 18 ч заканчивается к 24 ч. Второй незначи-тельный подъем митотического индекса идет до 48 ч, затем митотическая деятельность постепенно снижается, и к 72 ч появляются признаки старения моно-слоя в виде единичных мертвых клеток. Патологические митозы и погибшие клетки в контроль-ной культуре к этому сроку не превышают 5 — 7% от общего числа живых клеток.

Учет нормальных и патологических митозов в опытах с кристаллическим дифте-рийным токсином показал, что в начале своего действия токсин резко стимулирует инициацию митоза. Об этом свидетельствует быстрое нарастание митотического индекса до максимальных величин, превышающих уровень контроля в 2 — 3 раза при действии больших доз токсина. Преобладание ранних фаз митоза — профазы и метафазы также указывает на усиление митотической деятельности. Токсин как бы подталкивает клетку к делению. Чем больше дозы токсина, тем сильнее и быстрее проявляется его влияние (рис. 1), регистрируемое как в первом, так и во

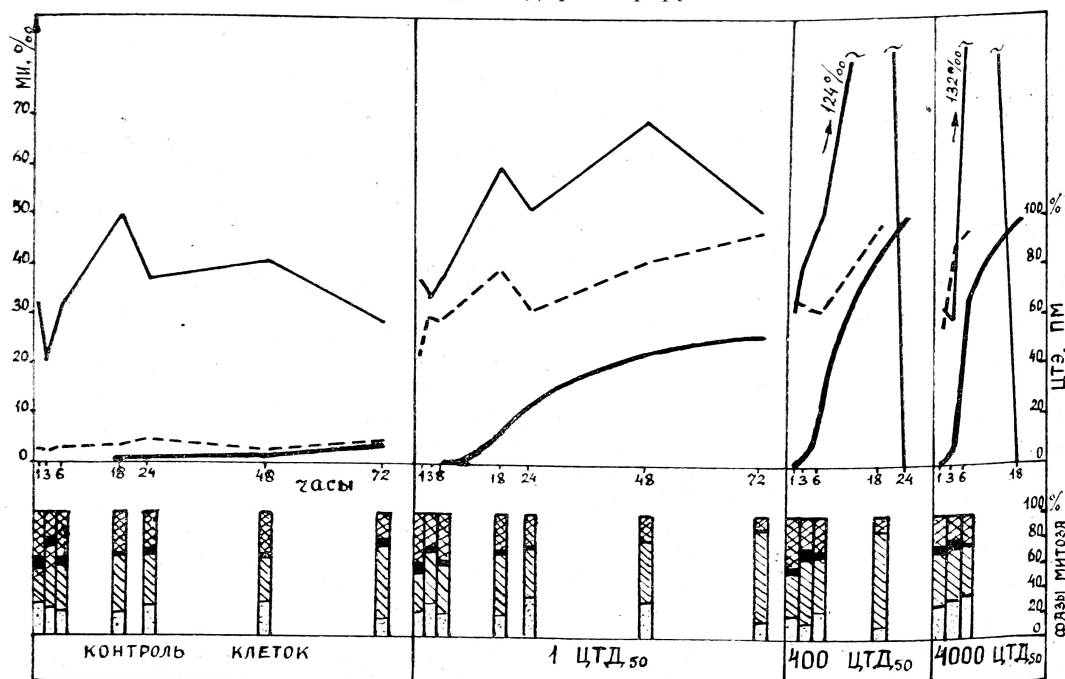


Рис. 1. Влияние дифтерийного токсина на митоз в культуре перевиваемого амниотического эпителия линии FL человека. Обозначения: тонкая линия — митотический индекс (МИ), прерывистая — патологические митозы (ПМ), утолщенная — цитотоксический эффект (ЦТЭ), столбцы с точками — профазы, со скошенными линиями — метафазы, закрашенные — анафазы, с перекрестными линиями — телофазы.

втором жизненных циклах. В процессе предыдущих исследований с нативным дифтерийным токсином меньшей удельной активности и при анализе в основном нормальных форм митоза на поздних сроках наблюдения (позже 6 ч после введения токсина) этот факт был выявлен лишь в отношении малых доз токсина, поскольку под действием больших доз нормальные митозы быстро исчезали. Одновременно с ускорением митозов отмечалось быстрое нарастание патологических форм митозов почти до 100% незадолго до гибели всего монослоя (рис. 2).

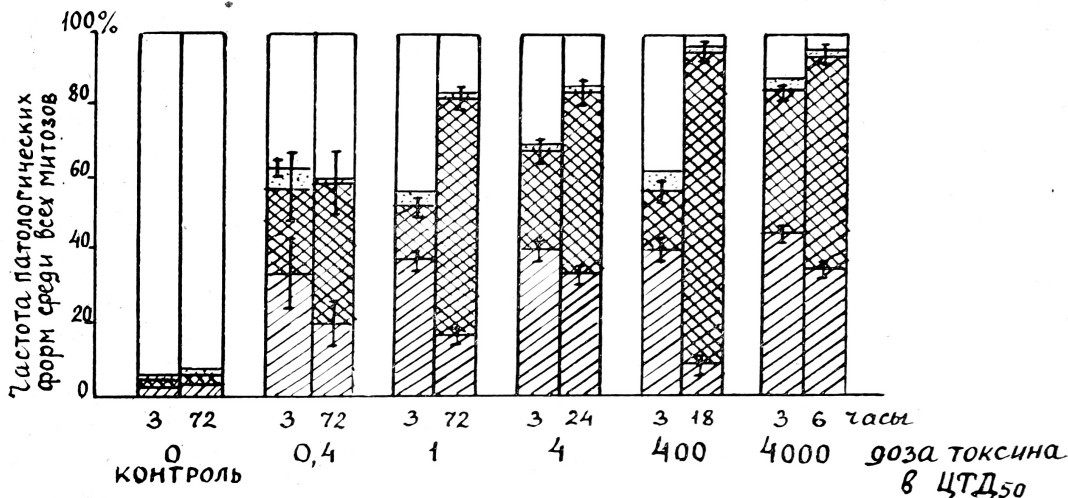


Рис. 2. Патологические формы митозов к исходу дифтерийной интоксикации клеток линии FL при разных дозах токсина.

Обозначения: столбцы со скошенными линиями — набухание и слипание хромосом, с точками — отставание хромосом, с перекрестными линиями — распад скомоковавшихся хромосом (кариорексис).

Каков же механизм антимиотического действия дифтерийного токсина? Известно, что нарушение нормального митотического процесса происходит либо в результате повреждения митотического аппарата, обеспечивающего равномерное расхождение разделившихся хромосом к двум полюсам делящейся клетки, либо вследствие повреждения самих хромосом. Соответственно различают две основные группы патологических форм митозов: формы повреждения митотического веретена и формы повреждения хромосом. Данные изучения патологических форм митозов, вызванных токсином, свидетельствуют о повреждении хромосом. На ранних сроках интоксикации обнаруживаются преимущественно набухание и склеивание хромосом в поздней профазе и метафазе с образованием бесформенных комочков или метафазы-шара, с отставанием набухших отежных хромосом в метакинезе, иногда с формированием трехгрупповой метафазы. Затем происходят агрегация и распад скомоковавшихся хромосом или их уплотнение в одну массу и пикнотизация (см. рис. 2). Такую картину можно видеть на препаратах с массовой гибелью клеток под действием токсина (рис. 3). Следует отметить, что интерфазные клетки на всем протяжении интоксикации морфологически оставались интактными.

В опытных клеточных культурах заметно чаще встречались отставание хромосом, трехгрупповая метафаза и хромосомные (или хроматидные) мосты в ана- и телофазах, что также, по-видимому, связано с набуханием и слипанием хромосом и их неспособностью к нормальному расхождению к полюсам в анафазе.

В отличие от хромосом аппарат деления клетки при дифтерийной интоксикации, очевидно, не страдает, поскольку при этом встречаются все фазы митоза, то есть переход делящейся клетки из одной фазы в другую не нарушается. Кроме того, практически отсутствуют патологические формы митоза, характерные для повреждения веретена деления. Вероятно, в дифтерийной патологии митоза существенной роли не играет и блокада синтеза клеточного белка, наступающая, как известно, в первые часы интоксикации [3, 4, 6]. Если бы митоз нарушался вследствие блокады синтеза белков, участвующих в митотическом процессе, то затруднялось бы само вступление клеток в митоз. Здесь же, наоборот, наблюдалось своеобразное подстигивание митоза и гибель только делящихся клеток с сохранением интерфазных.

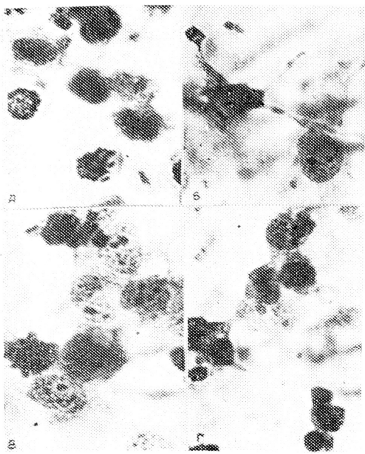


Рис. 3. Патологические формы митозов при дифтерийной интоксикации культуры клеток FL (40 ЦТД<sub>50</sub>, 3 ч). Окраска гематоксилин-эозином.  $\times 1440$ .

Обозначения: А — метафаза с набуханием, склеиванием и отставанием хромосом; Б — ранняя анафаза с распадом склеившихся набухших хромосом и формированием микроядра; В — фрагментация хромосом в метафазе; Г — кариорексис и пикнотизация в телофазе.

4. Интерфазные клетки на всем протяжении дифтерийной интоксикации морфологически интактными.

5. Дифтерийный токсин вызывает в делящихся клетках необратимое повреждение хромосом с набуханием и склеиванием их на ранней стадии процесса и распадом (кариорексис) или пикнозом на поздней.

При этом гибель делящихся клеток наступала либо на фоне агрегации набухших хромосом и распада поврежденных, либо при их пикнотизации. По мере увеличения действующей дозы токсина в порядке 0,4—1—100—1000 ЦТД<sub>50</sub> процент пикнотизированных клеток возрастал соответственно: 7,7—21,6—37,3—40,8 при 2,2 в контроле к 72 ч.

Таким образом, в основе цитотоксического эффекта дифтерийного токсина лежит его антимитотическая активность, которая является одним из основных элементов патогенеза дифтерийной интоксикации наряду с известным блокирующим влиянием токсина на синтез клеточного белка. Специфика цитотоксического действия токсина (продолжительность лаг-периода, постепенное развитие цитотоксического эффекта с неодновременным охватом клеток, отсутствие гибели интерфазных клеток) обусловлена особенностями антимитотического действия токсина. Выявление антимитотического действия дифтерийного токсина свидетельствует о необходимости изучения цитотоксического эффекта и других бактериальных токсинов и микробных факторов.

## ВЫВОДЫ

1. Дифтерийный токсин является митотическим ядом, убивающим делящиеся клетки.

2. В начале своего действия дифтерийный токсин стимулирует вступление клеток в митоз, о чем свидетельствует ускоренное нарастание митотического индекса и профаз.

3. Цитотоксическому эффекту предшествуют рост патологических митозов и снижение митотического индекса после первоначального подъема.

4. Интерфазные клетки на всем протяжении дифтерийной интоксикации остаются морфологически интактными.

5. Дифтерийный токсин вызывает в делящихся клетках необратимое повреждение хромосом с набуханием и склеиванием их на ранней стадии процесса и распадом (кариорексис) или пикнозом на поздней.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Алов И. А. Цитофизиология и патология митоза. М., Медицина, 1972.
2. Газизова Г. Р. а) Журн. микробиол., 1975, 3.— б) В кн.: Тезисы докладов XVI Всесоюзного съезда микробиологов и эпидемиологов. М., 1977, ч. I.— 3. Collier R. J. Bacteriol. Revs., 1975, 39.— 4. Parphenheimer A. M. Ann. Rev. Biochem., 1977, 46.— 5. Penso G., Vicari G. Rend. inst. sanit., 1957, 20.— 6. Strauss N. a. Hendee E. J. Exp. Med., 1959, 109.

Поступила 18 октября 1983 г.

## ОБЗОРЫ

УДК 616.24—002.5:611.12

### СОСТОЯНИЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

Ф. Т. Красноперов, А. А. Визель

Кафедра туберкулеза (зав.— проф. Ф. Т. Красноперов) Казанского ордена Трудового Красного Знамени медицинского института имени С. В. Курашова

За последние два десятилетия интерес клиницистов к состоянию сердечно-сосудистой системы у больных туберкулезом легких значительно возрос, что связано как