

Н. Л. ФЕЛЬДМАН

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ТОКСИЧНОСТЬ ДЛЯ КЛЕТКИ ДИФFUЗНЫХ И ГРАНУЛЯРНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ

(Представлено академиком Л. А. Орбели 15 XII 1947)

При окрашивании клетки витальными красителями некоторые красители равномерно окрашивают всю протоплазму, другие же после кратковременной первоначальной стадии диффузного окрашивания отмишриваются в виде гранул. Изучая окраску заведомо разнородных объектов (*Paramecium caudatum*, личинки *Chironomus plumosus* и портняжные мышцы лягушки) 16 основными витальными красителями, мы убедились в том, что характер распределения красителя в клетке в значительной степени не зависит от выбора объекта, а определяется выбором красителя. К такому же выводу мы пришли, сравнивая с нашими наблюдениями литературные данные (1-5).

Таким образом, витальные красители можно разделить на две группы: гранулярную и диффузную. К первым из числа исследованных нами красителей относятся: нейтральная красная, метиленовая, толуйдиновая и яркая крезильовая синяя, нильская голубая, тионин, бисмарк коричневый и янус зеленый. Ко вторым: хризоидин, диамантфуксин, далия, метиловая фиолетовая, родамин, малахитовая и яркая зеленая (табл. 1). Следует подчеркнуть, что эта классификация носит условный характер, так как некоторые красители занимают промежуточное положение и могут в одном случае окрашивать диффузно, а в другом отмишриваться в гранулы (например метиленовая синяя, янус зеленый, диамантфуксин).

Судя по многочисленным литературным данным, диффузные красители отличаются от гранулярных не только характером распределения в клетке, но и большой токсичностью (1, 2, 5, 7-10). Однако специальное исследование зависимости токсичности от характера распределения в клетке имеется только в работах Политцера (11) и В. Александрова (12). Поэтому представлялось интересным проследить эту зависимость на большом количестве красителей.

Мы предприняли систематическое сравнительное исследование токсичности и характера окрашивания, использовав 16 перечисленных выше красителей.

В первой серии опытов изучалась сравнительная токсичность основных красителей для личинок *Chironomus plumosus*. Личинки окрашивались тотально в М/2500 растворах красителя, приготовленных на водопроводной воде. Окраска производилась в темноте для устранения фотодинамического эффекта. Через определенные промежутки времени бюксы просматривались. О гибели личинки судили по прекращению подвижности и остановке биения сердца. Параллельно исследовался характер окрашивания различных тканей (слюнные железы, мальпигиевы сосуды, кишечный эпителий).

Таблица 1

Характер окрашивания различных объектов основными красителями
(+ гранулярное отложение, — диффузное окрашивание)

Название красителей	Яйца пчелкожих (1)	Личинки амфибий (разные ткани) (2)	Головастики (мишечн. эпит.) (3)	Лягушка (железы мигатель. перепонки) (Гармус)	Головастики (почка) (4)	<i>Paramecium caudatum</i> (5)	Личинки саламандры (эпител. рогов.) (11)	Личинки <i>Chironomus plumosus</i> (слонные железы) (12)	Белая мышь (разные ткани) (6)	Собственные наблюдения		
										<i>Paramecium caudatum</i>	Личинки <i>Chironomus plumosus</i> (разные ткани)	Лягушка (портняжные мышцы)
Нейтральная красная	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Метиленовая синяя	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Яркая крезильовая синяя	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Толуидиновая синяя	+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Сульфат нильской голубой		+		+	+	+		+	+	+	+	+
Хлоргидрат нильской голубой		+		+	+	+		+	+	+	+	+
Тионин	+			+	+			+				+
Янус зеленый					+			+				+
Бисмарк коричневый	-	±	+	+	±	+		-	-	-	-	+
Диамантфуксин					±						±	-
Далия	-	-						-	-	-	-	-
Метиловая фиолетовая	-	-			±			-	-	-	-	-
Хризоидин	-	-			-			-	-	-	-	-
Малахитовая зеленая	-	-			-			-	-	-	-	-
Родамин				-	+	*		-	-	-	-	-
Яркая зеленая	-				-			-	-	-	-	-

* Эти данные вызывают большое сомнение, особенно в связи с наблюдениями Моне (6), который окрашивал родамином ряд простейших и другие объекты и никогда не наблюдал отложения его в гранулах.

Таблица 2

Сравнительная токсичность основных красителей для личинок *Chironomus plumosus*

Название красителя	Характер окрашивания	Среднее время гибели	Число опытов
Нейтральная красная	Гранулярный	2 ч. 30 м.	19
Метиленовая синяя	»	47 ч.	25
Яркая крезильовая синяя	»	32 ч.	24
Толуидиновая синяя	»	46 ч.	25
Сульфат нильской голубой	»	5 ч.	25
Хлоргидрат нильской голубой	»	11 ч.	20
Тионин	»	9 ч. 30 м.	24
Янус зеленый	»	23 ч.	22
Диамантфуксин	»	47 ч.	19
Далия	Диффузный	3 ч. 30 м.	24
Метиловая фиолетовая	»	1 ч.	24
Хризоидин	»	1 ч.	25
Малахитовая зеленая	»	2 ч.	25
Родамин	»	30 м.	25
Яркая зеленая	»	1 ч.	26

Красители располагаются по возрастающей токсичности следующим образом (курсивом обозначены гранулярные красители): *метиленовая синяя* = *толуидиновая синяя* < *диамантфуксин* < *яркая крезильовая синяя* < *янус зеленый* < *нильская голубая* = *тионин* < *далия* < *нейтральная красная* < *малахитовая зеленая* = *метиловая фиолетовая* = *хризоидин* < *яркий зеленый* = *родамин*.

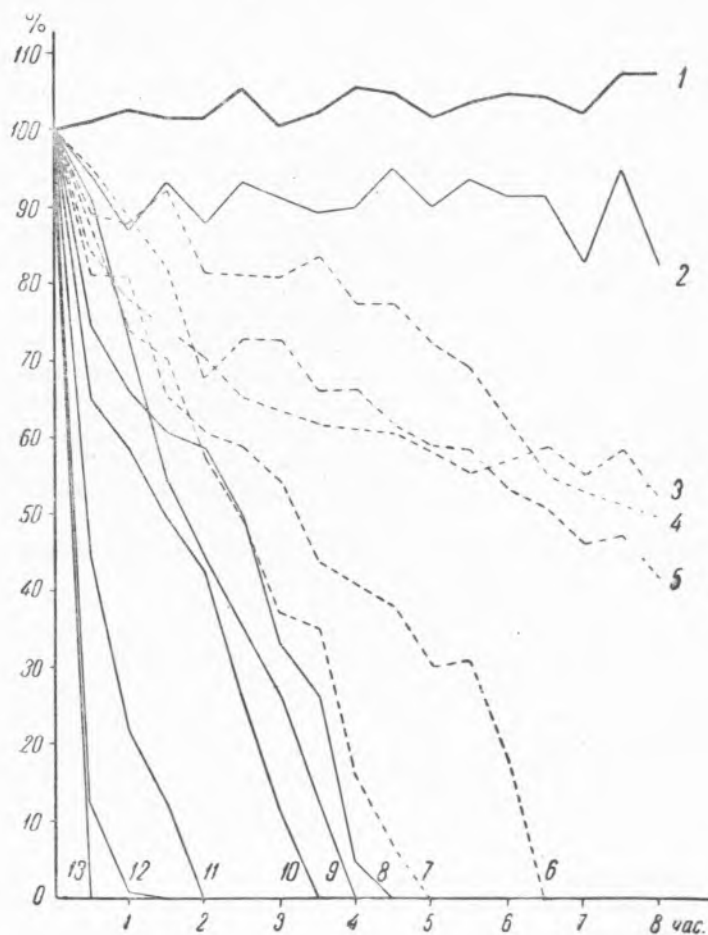


Рис. 1. Изменение порога возбудимости портняжных мышц лягушки в М/2000 растворах основных красителей. Пунктир — гранулярные красители, сплошная линия — красители диффузные. 1 — раствор Рингера; 2 — родамин; 3 — тионин; 4 — нейтральная красная; 5 — метиленовая синяя; 6 — янус зеленый; 7 — яркая крезильовая синяя; 8 — хризоидин; 9 — малахитовая зеленая; 10 — диамантфуксин; 11 — далия; 12 — метиловая фиолетовая; 13 — яркая зеленая

В начале этого ряда стоят гранулярные красители, в конце — диффузные (табл. 2). Следует отметить, однако, и некоторые исключения. Гранулярный краситель нейтральная красная оказалась стоящей позади диффузной далии, а диффузный диамантфуксин — в одной группе с гранулярными красителями. Большая токсичность нейтральной красной объясняется, повидимому, тем, что она лучше других гранулярных красителей проникает через хитин⁽¹³⁾. Малая токсичность диамантфуксина также имеет свое объяснение. Диамантфуксин гранулярно отмешивается в некоторых тканях *Chironomus*'а (например в мальпигиевых сосудах) и, следовательно, относится к промежуточной группе красителей. Таким образом, красители, диффузно окрашивающие тка-

ни личинки *Chironomus plumosus*, более ядовиты для них, чем красители, отмешивающиеся в гранулы.

Следующая серия опытов была поставлена на портняжных мышцах лягушки. Отпрепарованные мышцы выдерживались некоторое время в растворе Рингера, после чего определялся порог возбудимости при помощи индукционной катушки. Затем мышцы переносились в М/2000 и М/4000 растворы красителей, приготовленные на растворе Рингера. Каждые 30 мин. повторно определялся порог возбудимости. Окрашивание производилось в темноте. Параллельно с определением порога возбудимости изучался характер окрашивания. Результаты этих опытов изображены на рис. 1.

Токсичность красителей для портняжных мышц лягушки возрастает следующим образом (курсивом изображены красители, гранулярно откладывающиеся в мышцах): *нейтральная красная* = тионин = родамин < *метиленовая синяя* = янус *зеленый* < *яркая крезоловая синяя* = хризоидин < *диамантфуксин* < *далия* < *метиловая фиолетовая* = малахитовая зеленая < *яркая зеленая*.

И в этом случае гранулярные красители оказываются менее токсичными, чем красители диффузные. Исключение составляет родамин, в растворе которого на протяжении всего опыта возбудимость почти не меняется, несмотря на то, что мышца интенсивно окрашена в розовый цвет. Необычное поведение родамина может быть в известной степени объяснено наблюдениями А. Д. Брауна. По его данным, родамин, в отличие от других красителей, почти не связывается с миозином.

Политцер и Александров на основании своих исследований сделали вывод о защитном значении для клетки гранулярного связывания красителей. Наши наблюдения о большей токсичности диффузных красителей по сравнению с красителями гранулярными служат подтверждением этой точки зрения. Способность к гранулярному отмешиванию — широко распространенная функция клетки. Не только красители, но и целый ряд других веществ, попадая в клетку, изолируются в гранулы. Очень возможно, что эта реакция имеет большое биологическое значение, ибо и в нормальной жизнедеятельности клетки гранулообразование дает возможность обезвредить вещества, диффузное распространение которых могло бы оказаться токсичным.

Институт экспериментальной медицины
Академии Медицинских Наук СССР

Поступило
10 XII 1947

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ A. Fischel, Anat. Hefte, 11, 463 (1899). ² A. Fischel, *ibid.*, 16, 415 (1901).
³ W. Möllendorff, 90, 503 (1918). ⁴ E. Nirenstein, 179, 233 (1920). ⁵ M. Seki, Z. Zellforsch., 18, 1 (1933). ⁶ L. Monné, Z. Mikrosp., 55, 143 (1938). ⁷ R. Höber, Pflüg. Arch., 86, 199 (1901). ⁸ R. Höber, Bioch. Z., 67, 420 (1914). ⁹ J. Traube, Kolloidchem. Beih., 3, 237 (1912). ¹⁰ B. Kedrowsky, Z. Zellforsch., 22, 399 (1935). ¹¹ G. Politzer, Verh. Zool. Bot. Ges. Wien, 74/75, 288 (1926). ¹² В. Александров, Арх. анат., гист. и эмбр., 222, 67 (1939). ¹³ В. Александров, Биол. журн., 3, 490 (1934).