Доклады Академии Наук СССР
1950. Том LXXIV, № 3

ЦИТОЛОГИЯ

А. Ф. ИВАНИЦКАЯ

МОРФОЛОГИЯ ФАГОЦИТОЗА И ПЕРЕВАРИВАНИЯ БАКТЕРИЙ ЛЕЙКОЦИТАМИ В КУЛЬТУРАХ ВНЕ ОРГАНИЗМА

(Представлено академиком К. И. Скрябиным 9 VIII 1950)

Мечников, открывший процессы фагоцитоза и переваривания, наблюдал эти процессы на живых клетках животных, стоящих на разных ступенях зоологической лестницы [1,2].

Со времени Мечникова учение о фагоцитозе получило значительное развитие, однако и до сих пор есть стороны этого процесса, требующие своей дальнейшей разработки. Мы поставили перед собой задачу выяснить морфологию фагоцитоза на двух видах клеток: на лейкоцитах-микрофагах и на макрофагах. Так как эти две группы клеток различны по своему строению и характеру движения, мы считали вероятным, что и механизм их фагоцитарной активности должен быть также неодинаковым.

В качестве материала для изучения этого вопроса мы выбрали лейкоциты и макрофаги аксолотля, отличающиеся своими крупными размерами.

Наблюдения за фагоцитозом макрофагами мы проводили в культурах краевой зоны печени аксолотля. Кусочки органа культивировались в смеси, состоящей из куриной плазмы, предварительно гипотонизированной вдвое, и 30% экстракта куриного эмбриона.

После долгих предварительных поисков мы избрали в качестве фагоцитируемого объекта невирулентную бактерию Cayophanon latum, выделенную М. А. Пешковым из коровьего навоза. Мы остановились на ней потому, что она почти не размножается в условиях, в которых культивировались лейкоциты и макрофаги, и имеет крупные размеры (до 20μ), делающие ее очень удобной для морфологических наблюдений. Мы готовили взвесь бактерий и вводили ее в культуры в момент их постановки на некотором расстоянии от кусочка.

При благоприятных условиях множественная миграция специальных лейкоцитов (микрофагов) из высаженного кусочка печени начиналась через 20—30 минут после постановки культур. При выходе из кусочка клетки, мигрируя в среду, образовывали большую плотную зону вокруг эксплантата. Они быстро достигали бактерий и начинали их фагоцитировать. Непременным условием для осуществления фагоцитоза, как указывал в свое время и Мечников, являлось расположение фагоцитирующей клетки и бактерии в одной плоскости и контакт клетки с поверхностью стекла. Лейкоциты, находившиеся во взвешенном состоянии, не фагоцитировали. Клетки, располагавшиеся по поверхности стекла, заглатывали бактерий особенно интенсивно: до 8, даже 10 бактерий на каждую клетку.

Процесс фагоцитоза мы наблюдали прижизненно и регистрировали с помощью микрокиносъемки. Покадровый анализ полученной кино-

пленки, проведенный путем проектирования с фотоувеличителем и зарисовки, дал возможность разобраться в ряде сторон механизма фагоцитоза.

Специальный лейкоцит — очень подвижная клетка. Скорость его движения достигает 33—40 μ в минуту. Сегментированное ядро, могущее легко изменять свою форму, не препятствует быстрому передвижению клетки и прохождению ее по узким щелям и пространствам. Двигается она по способу амебоидной подвижности, т. е. путем перетекания цитоплазмы, легко изменяя направление движения ([3,4]). Передний (по ходу движения) конец клетки остается при этом свободным,

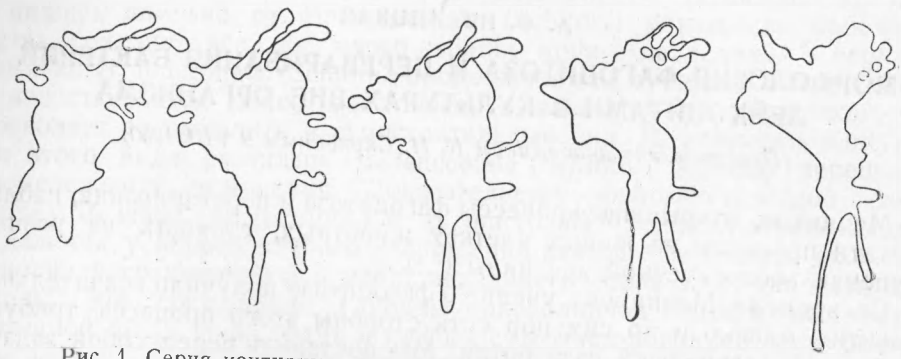

Рис. 1. Серия контурных рисунков процесса фагоцитоза микрофагом

в то время как задний, прилипающий к субстрату, нередко вытягивается в длинные тонкие нити в количестве 2—4, редко больше. В процессе движения, повидимому, происходит изменение вязкости отдельных участков цитоплазмы, куда перетекает остальное содержимое тела клетки, а в результате — перемещение всей клетки в соответственном направлении. Амебоидноподвижные клетки фагоцитируют путем натекания на бактерии, обтекания, обволакивания и погружения их в тело клетки. Приведенные контурные зарисовки (рис. 1) иллюстрируют последовательные моменты погружения бактерии в клетку. Процесс погружения бактерии в тело клетки совершается в течение 1—2 минут. Клетка может захватить от 1 до 8 и более бактерий.

Наблюдая фагоцитоз в живых культурах, мы обнаружили, что не все лейкоциты, будучи в контакте с бактериями, фагоцитируют. Некоторые из них, приблизясь к бактериям, удаляются от них, не фагоцитируя. По данным Чистовича и Аринкина ([5]), фагоцитарные свойства обнаруживают только зрелые лейкоциты. Молодые их формы фагоцитировать не способны. Покрашенные препараты из культур печени аксолотля показали, что клеточный состав зоны миграции не однороден, что нетрудно определить по характеру строения клеточного ядра. Разные лейкоциты находятся на разной степени дифференцировки. Клетки, ушедшие дальше от кусочка, обычно и фагоцитировали более активно. Клетки, располагающиеся по поверхности стекла даже вблизи кусочка, фагоцитировали более интенсивно, чем лейкоциты, находящиеся в глубине плазменного сгустка. Судя по морфологическим признакам, именно эти фагоцитировавшие клетки-лейкоциты оказывались наиболее зрелыми. Таким образом, наши данные полностью подтверждают высказывания Чистовича и Аринкина.

Мечников отмечал, что одним из основных свойств фагоцитов является их способность к внутриклеточному перевариванию. Попавший в клетку микроб, как правило, подвергается перевариванию. Но для этого микроб должен быть сначала убит. Тех микробов, которых

лейкоциты захватывают, но убить не могут, они не могут и переварить ([6]).

Захваченная лейкоцитом бактерия в условиях тканевой культуры быстро становится плохо видимой, так что проводить наблюдения за ней затруднительно. Поэтому при наблюдении за перевариванием мы пользовались нейтральной красной в концентрации 1 : 50 000, которую вводили в среду. Живые бактерии, рассеянные в среде, от прибавления нейтральной красной не изменялись и оставались бесцветными. Если же эти бактерии захватывались клетками, то через некоторое время можно было обнаружить, как они постепенно становились розовыми и, наконец, интенсивно и равномерно красными. Эти реакции микробной клетки на краситель указывают на то, что бактерия, пройдя стадию паранекроза, оказывалась в клетке убитой ([7]). Именно в таких культурах нам удалось проследить течение процесса переваривания Caryophanon latum микрофагами. В основном он совершается так: в сплошной палочке, окрашенной равномерно в красный цвет, появляются перегородки. Затем по этим перегородкам бактерия распадается на фрагменты, впоследствии теряющие связь между собою и изолирующиеся друг от друга в протоплазме фагоцита. Интенсивно красная окраска изолированных частиц бактерии постепенно бледнеет и, наконец, исчезает совсем: фрагменты бактерии как бы растворяются, не оставляя от бактерии никаких видимых следов. Довольно быстрое окрашивание бактерий витальным красителем (в течение 20—30 мин.) говорит о быстро и интенсивно развивающихся ферментативных процессах, в результате которых бактерии убиваются, воспринимают краситель, а затем перевариваются. Продолжительность переваривания разными клетками очень различна. Это зависит, вероятно, от состояния клетки, уровня ее дифференцированности, количества захваченных бактерий, качества этих бактерий и, может быть, ряда других, неизвестных пока факторов, которые чисто морфологическими методами не обнаруживаются. Сроки переваривания колеблются в довольно широких пределах, от $^1/_2$ часа до 4—6 часов. Заглотив большое количество бактерий, клетка не всегда может их переварить и погибает.

Перейдем теперь к описанию фагоцитоза и переваривания макрофагами. Для получения макрофагов мы вызывали у аксолотля асептическое воспаление. Простым проколом стенки брюшной полости или введением в эту полость стерильного раствора Рингера мы стимулировали интенсивный диапедез, в результате которого в полости живота скоплялось большое количество лейкоцитов. На второй, третий день после нанесения того или иного раздражения эксудат содержал большие количества почти чистых макрофагов. Мы добывали капельку этого эксудата и готовили из него переживающие культуры, в которые вводили взвесь Caryophanon latum. Наблюдения и регистрация производились описанным выше способом.

Макрофаг — крупная аполярная клетка с простым крупным ядром и ясно выраженной эндо- и экзоплазмой. На внешней — периферической поверхности экзоплазмы заметна сильно подвижная ундулирующая мембрана с целым рядом псевдоподий „ковшей“, являющихся, по нашему представлению, опорными структурами этой мембраны. Детальный анализ этих структур обнаруживает, что они состоят из эндоплазмы и, проходя сквозь ундулирующую мембрану, образуют как бы складки. Они очень подвижны, быстро сокращаются и расслабляются и легко изменяют свое положение (рис. 2 на вклейке, стр. 644). Макрофаг передвигается с такой же скоростью, как и специальный лейкоцит и также свободно и быстро меняет направление своего движения. На этом основании Люис ([4]), Бруйн ([8–10]) и др. назвали характер его движения деполяризованным.

Витальные наблюдения и покадровый анализ кинопленки показал, что механизм фагоцитоза совершенно иной, чем у специальных лейкоцитов. Двигаясь навстречу бактерии, макрофаг вытягивает по направлению к ней псевдоподии, которые дорастают до бактерии и касаются ее. С другой стороны по направлению к бактерии выпячивается и ундулирующая мембрана. Машущим движением псевдоподии-ковши как бы обхватывают бактерию и подвигают ее к ундулирующей мембране. Под давлением псевдоподий бактерия погружается в ундулирующую мембрану. Погружение в мембрану происходит все глубже, причем сокращение ковшей-псевдоподий ускоряет этот процесс. Это особенно отчетливо заметно, когда бактерия по отношению к двигающейся клетке-макрофагу расположена широкой стороной своего тела.

Так же как и специальные лейкоциты, макрофаги могут захватить большое количество бактерий и, если переваривают их, то погибают.

Таким образом, приведенные наблюдения показали, что: 1) два вида подвижных клеток, выполняющих в организме защитную функцию, осуществляют процесс фагоцитоза различными способами. 2) Разным клеткам присущ свой характер движения, определяющий как динамическую морфологию клетки, так и в особенности течение различных клеточных процессов, в частности фагоцитоза. 3) Изложенные в работе наблюдения показывают плодотворность прижизненного изучения клеточных процессов с применением микро-кино-регистрации.

Институт морфологии животных
Академии наук СССР

Поступило
18 V 1950

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] И. И. Мечников, Невосприимчивость в инфекционных болезнях, СПб, 1903. [2] И. И. Мечников, Лекции по сравнительной патологии воспаления, Медгиз, 1947. [3] W. Lewis, Arch. exper. Zellforsch., 4, 3 (1927). [4] W. Lewis, Anat. Rec., 45, 229 (1930). [5] А. В. Васильев, Гематология сел.-хоз. животных, Сельхозгиз, 1948, стр. 45. [6] Л. А. Зильбер, Основы иммунитета, Медгиз, 1948. [7] Д. Н. Насонов и В. Я. Александров, Реакция живого вещества на внешние воздействия, Изд. АН СССР, 1940. [8] P. P. De Bruyn, Anat. Rec., 89, 43 (1944). [9] P. P. De Bruyn, ibid., 93, 45 (1945). [10] P. P. De Bruyn, ibid., 95, 177 (1946).