

УДК 576.353(091):378.4:61(477.54)ХНМУ

В.Е. Ещенко

Харьковский национальный медицинский университет

ИССЛЕДОВАНИЕ МИТОХОНДРИЙ В ХАРЬКОВСКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ МЕДИЦИНСКОМ УНИВЕРСИТЕТЕ

Многолетние исследования посвящены изучению взаимоотношений между митохондриями и организмом. На экспериментальных опухолях установлено, что введение митохондрий, выделенных из опухолевых клеток, повышает противоопухолевую устойчивость организма.

Ключевые слова: митохондрии и организм, противоопухолевый иммунитет.

В связи с заметным интересом, проявляемым в последнее время зав. кафедрой медицинской генетики чл.-кор. АМНУ проф. Е.Я. Гречаниной [1, 2] к митохондриальным болезням, необходимо вспомнить, что исследование митохондрий в Харьковском государственном медицинском университете началось еще в 60-х годах прошлого столетия и продолжалось в 70-х довольно активно.

Первым, кто начал выделять митохондрии и исследовать их, был Павел Авксентьевич Калиман, в то время доцент кафедры биохимии ХГМУ, интенсивно трудившийся над докторской диссертацией. Он добился построения на кафедре биохимии охлаждающей камеры, в которой и работала центрифуга. В то время рефрижераторная центрифуга была мечтой. Путем дифференциального центрифугирования гомогенатов тканей П.А. Калиман выделял митохондрии сердца, почек, мозга, печени кроликов. Он установил, что митохондрии печени содержат ферменты окислительного дезаминирования катехоламинов (необратимое инактивирование адреналина, норадреналина и других биогенных аминов), тогда как другие ферменты превращения катехоламинов локализованы в цитозольной части клетки [3, 4].

В то время автор данной статьи, бывший студент П.А. Калимана, всегда пользовавшийся его дружеской поддержкой, заинтересовался митохондриями, защитил кандидатскую диссертацию, в которой было установлено влияние адренокортикотропного гормона и кортизона на медиаторы нервной системы (система ацетилхолин-холинэстера-

за и катехоламины) при воспалении. Была доказана связь между нервной и эндокринной системами при патологии [5]. Далее я переключился на изучение экспериментальных опухолей. Вначале исследовал влияние перенесенного острого воспаления на рост перевиваемой опухоли. Но направление «воспаление+опухоль», безусловно, перспективное, привлекло меня к проблеме выяснения роли реактивности организма в опухолевом росте. В это время (1962) появилась книга Р.Е. Кавецкого «Опухоль и организм» [6]. Кстати, Р.Е. Кавецкий, как ответственный редактор Республиканского межведомственного сборника, любезно опубликовал результаты наших исследований [7].

Дальнейшие исследования были посвящены выяснению возможности влияния на опухолевый рост иммунизации митохондриями опухолевых клеток и получили одобрение чл.-кор. АН УССР проф. Даниила Евсеевича Альперна.

Вначале изучали опухолевый рост в условиях иммунизации кроликов митохондриями, выделенными из опухоли Броуна–Пирса, и обнаружили повышение устойчивости животных к росту той же опухоли. Результаты были доложены на заседании Харьковского научного медицинского общества в 1965 г. В дальнейшем иммунизировали мышей митохондриями, выделенными из клеток асцитной карциномы Эрлиха, саркомы 37, лимфолейкоза Фишера, и было установлено уменьшение процента успешной перевивки опухолей [8]. Иммунизация животных ядрами опухолевых клеток, а также митохондриями или ядрами

печеночных клеток не способствовала формированию противоопухолевого иммунитета.

Однако длительно перевиваемые экспериментальные опухоли отличаются от впервые возникших. Поэтому в последующем у мышей С57В1/6 (питомник АМН СССР «Рапполово») индуцировали опухолевый рост введением под кожу 20-метилхолантрена. В то время морфологическим отделом ЦНИЛ ХГМУ заведовала Тамара Степановна Батурина, высококвалифицированный патоморфолог. Она установила, что индуцированная метилхолантrenom опухоль является полиморфноклеточной саркомой. Из образовавшейся опухоли выделяли митохондрии и ядра, которыми иммунизировали мышей. При иммунизации митохондриями обнаружено повышение устойчивости организма к росту опухоли, иммунизация ядрами не была эффективной [9, 10].

Для выяснения механизма противоопухолевой устойчивости вследствие иммунизации исследовали воздействие на опухолевые клетки сыворотки кроликов, иммунизированных субклеточными фракциями. Было показано, что сыворотка кроликов, иммунизированных митохондриями или ядрами клеток асцитной карциномы Эрлиха, тормозит активность сукцинатдегидрогеназы, но повышает активность фосфофруктокиназы клеток той же опухоли [11]. Сыворотка кроликов, иммунизированных митохондриями асцитной карциномы Эрлиха, оказывает повреждающее действие на клетки той же опухоли – обработанные такой сывороткой опухолевые клетки реже вызывают опухолевый рост, чем контрольные [12]. Сыворотка обладает цитотоксическим и цитолитическим действием на опухолевые клетки [13].

Нами установлено, что под влиянием иммунной сыворотки в клетках асцитной карциномы Эрлиха наступают морфологические изменения, обнаруживаемые при световой микроскопии: на поверхности клеток (зейоз) появляются пузырьки или значительно увеличивается цитоплазма со смещением ядра – симметрическая или эксцентрическая везикация (наш термин) [14].

При электронно-микроскопическом исследовании установлено, что воздействие на клетки асцитной карциномы Эрлиха антиядерной сыворотки приводит к изменениям ультраструктуры клетки, среди которых наиболее показательным является образование

перинуклеарных пузырей. Антимитохондриальная сыворотка вызывает разнообразные изменения ультраструктуры клеток и их органоидов. Особенно изменены митохондрии. Они вакуолизованы, внутреннее строение нарушено, встречаются митохондрии с резко уплотненным матриксом, в матриксе обнаруживаются фестончатые зерна [15].

Введение с целью иммунизации субклеточных фракций приводит к существенным изменениям в целостном организме. Отмечено увеличение массы селезенки как в процессе иммунизации, так и после перевивки опухоли. При этом морфогистохимические изменения в органе свидетельствуют об активации иммунного ответа. Интересная картина наблюдалась в печени животных, иммунизированных ядрами и митохондриями печеночных клеток. Если после первой инъекции субклеточных фракций можно было наблюдать только слабо выраженные дистрофические процессы в паренхиме органа, то после перевивки опухоли в печени повсеместно появились множественные крупные и мелкие некротические очаги [16].

Нами были обнаружены некоторые особенности влияния на организм ядер и митохондрий нормальных и опухолевых клеток. Введение митохондрий из асцитных опухолей сопровождалось гибелью не более 15 % животных, тогда как введение ядер обуславливало гибель от 53 до 80 % животных. В то же время введение ядер и митохондрий печеночных клеток не влияло на жизнедеятельность мышей [17].

Было также установлено, что у животных, иммунизированных субклеточными фракциями опухолевых клеток, повышена цитотоксичность лимфоцитов к клеткам той же опухоли [18].

Таким образом, многолетними исследованиями было установлено, что противоопухолевый иммунитет, приобретенный в результате иммунизации субклеточными фракциями опухолевых клеток, осуществляется в организме при помощи не только гуморальных, но и клеточных механизмов защиты.

Мною с помощью заинтересовавшегося митохондриями доц. кафедры патанатомии Виталия Николаевича Офицерова, моего однокурсника, с которым меня связывали многолетнее сотрудничество и дружеские отношения, а также благодаря ст. научн. сотр. Института общей и неотложной хирургии

Валерию Павловичу Невзорову была исследована ультраструктура опухолевых клеток, обработанных иммунной сывороткой.

В.Н. Офицеров проводил стереоскопический анализ кардиомиоцитов и обнаружил ряд стереотаксических констант, среди которых выделил следующие: суммарный объем митохондрий и миофибрилл является величиной постоянной – кардиомиоцитарная константа, суммарное приращение объемов митохондрий и миофибрилл равно нулю, адаптационная перестройка митохондрий и миофибрилл происходит в интервале 11 % [19]. В последующем он выдвинул структурно-адаптационную концепцию патогенеза хронической сердечной недостаточности. Смысл ее заключается в том, что имеются общие закономерности организации и механизмы возрастной неспецифической адаптации кардиомиоцитов. Процесс обеспечивается изменением удельного объема митохондрий и миофибрилл в пределах постоянной величины (80 %) их суммарной объемной плотности. Структурной основой возрастной адаптации является прогрессивный линейный рост удельного объема митохондрий при соответствующем уменьшении объемной плотности миофибрилл. А величина объемной плотности характеризует состояние энергопродуцирующей системы клеток [20]. В.Н. Офицеров считал, что разность между фактическим значением объемной плотности митохондрий и его максимальным значением

дает представление о сохранившемся резерве адаптации и, следовательно, о тяжести и прогнозе заболевания. Фактическое значение объемной плотности митохондрий является показателем «биологического» возраста кардиомиоцитов [21].

Достоверность ультраструктурной перестройки кардиомиоцитов была подтверждена результатами биохимических исследований, проведенных доц. кафедры биохимии Виктором Максимовичем Денисовым. В совместной с В.Н. Офицеровым работе он показал, что при компенсаторной гипертрофии сердца крыс изменение объемной плотности органелл сопровождается адекватным изменением Са-Mg-зависимых АТФ-митохондрий и миозина [22].

К сожалению, судьбе было угодно, чтобы дальнейшее развитие этих исследований приостановилось. В.Н. Офицеров в 1982 г. не стало. Обстоятельства сложились так, что и я вынужден был прекратить активное проведение экспериментов.

Конечно, изучение митохондрий продолжается. Кроме упомянутых структурных и функциональных митохондриопатий (митохондриальные болезни) возникли митохондриальная физиология и патофизиология [23], митохондриальная фармакология [24], митохондриальная генетика [25] и т. д. Но не повторяется и не развивается изучавшееся нами направление – митохондрии и целостный организм.

Список литературы

1. Мітохондріальні хвороби (Методичні рекомендації) / О.Я. Гречаніна, Ю.Б. Гречаніна, О.П. Здибська та ін. // *Новости медицины и фармации.* – 2005. – № 20–22. – С. 18–19; 2006. – № 1–2. – С. 19–20; № 3. – С. 9.
2. *Гречанина Ю.Б.* Вивчення впливу поліморфізмів МТДНК та поліморфних варіантів генів С677Т МТНFR, А.66G МTRR на клінічні прояви мітохондріальних дисфункцій // *Клінічна генетика і перинатальна діагностика.* – 2012. – № 1 (1). – С. 112–141.
3. *Калиман П.О.* Окислення симпатоміетичних амінів препаратами моноаміноксидаз печінки кролів та гальмування їх окислення фенілгідразином і деякими його похідними / П.О. Калиман // *Український біохімічний журнал.* – 1964. – Т. 36. – С. 96.
4. *Калиман П.А.* О роли моноаминоксидазы митохондрий некоторых органов кроликов в окислении пирокатехинаминов и тирамина / П.А. Калиман // *Биохимия.* – 1965. – Т. 30, № 6. – С. 1194–1203.
5. *Ещенко В.Е.* Воздействие АКТГ и кортизона на некоторые химические медиаторы при воспалении : автореф. дис. ... канд. мед. наук / В.Е. Ещенко. – Харьков, 1963. – 16 с.
6. *Кавецкий Р.Е.* Опухоль и организм / Р.Е. Кавецкий. – К.: Госмедиздат УССР, 1962. – 200 с.
7. *Альперн Д.Е.* Опухолевый рост и активность холинэстеразы в организме животных, перенесших воспаление / Д.Е. Альперн // *Вопросы экспериментальной онкологии: Республ. межведомств. сб.* – Вып. 4. – К.: Здоров'я, 1969. – С. 79–85.

8. *Ещенко В.Е.* Опухолевый рост в условиях иммунизации митохондриями / В.Е. Ещенко / Механизмы повреждения, резистентности, адаптации и компенсации. – Т. 2. – Ташкент: Мукуми, 1975. – С. 154–155.
9. *Ещенко В.Е.* Рост перевитой экспериментальной опухоли в организме, иммунизированном митохондриями / В.Е. Ещенко, Т.С. Батурина // Актуальные вопросы клинической морфологии. – Харьков, 1979. – С. 38–39.
10. *Ещенко В.Е.* Влияние иммунизации митохондриями на рост индуцированной метилхолантреном опухоли / В.Е. Ещенко // Иммунологическая реактивность в патологии. – Киев–Винница, 1979. – С. 120.
11. *Ещенко В.Е.* Влияние антимиохондриальной и антиядерной сывороток на активность некоторых ферментов в клетках асцитной карциномы Эрлиха / В.Е. Ещенко // Повреждение и регуляторные процессы организма. – М., 1982. – С. 310–311.
12. *Ещенко В.Е.* Влияние иммунизации митохондриями на цитотоксические свойства сыворотки крови / В.Е. Ещенко // Микробиология, эпидемиология и клиника инфекционных болезней. – Харьков, 1984. – С. 25–26.
13. *Ещенко В.Е.* Цитотоксическое и цитолитическое действие антимиохондриальной и антиядерной сывороток / В.Е. Ещенко // Нейрогуморальная регуляция в патологии. – Харьков: ХГМУ, 1994. – С. 54–57.
14. *Ещенко В.Е.* Морфологические изменения в клетках асцитных опухолей при воздействии иммунной сыворотки / В.Е. Ещенко // Микробиология, эпидемиология и клиника инфекционных болезней. – Харьков, 1986. – С. 48–50.
15. *Ещенко В.Е.* Влияние сывороток, иммунизированных субклеточными фракциями животных на ультраструктуру опухолевых клеток / В.Е. Ещенко, В.П. Невзоров // Медико-технические, фармакологические и научные аспекты медицинской профилактики, диспансеризации и реабилитации. – Харьков, 1984. – С. 358.
16. *Ещенко В.Е.* Реакция селезенки и печени на введение в организм ядер и митохондрий / В.Е. Ещенко, Т.С. Батурина // Нервные и гуморальные механизмы компенсации в условиях действия патогенных факторов. – Запорожье, 1985. – С. 49.
17. *Ещенко В.Е.* Особенности влияния на организм ядер и митохондрий нормальных и опухолевых клеток / В.Е. Ещенко // Структурно-функциональные единицы и их компоненты в органах висцеральных систем в норме и патологии. – Харьков: ХОП ВНМО, 1991. – С. 80.
18. *Ещенко В.Е.* Влияние иммунопрофилактики опухолевого роста с помощью субклеточных фракций на цитотоксические свойства лимфоцитов / В.Е. Ещенко // Медико-технические, фармакологические и научные аспекты медицинской профилактики, диспансеризации и реабилитации. – Харьков, 1984. – С. 359.
19. *Офицеров В.Н.* Некоторые закономерности структурного гомеостаза кардиомиоцитов / В.Н. Офицеров, Г.Е. Загоруйко // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1977. – Т. 84, № 11. – С. 613–616.
20. *Офицеров В.Н.* Структурно-адаптационная концепция патогенеза хронической сердечной недостаточности / В.Н. Офицеров // Актуальные вопросы клинической морфологии: Сб. научн. трудов. – Харьков, 1979. – С. 65–67.
21. *Офицеров В.Н.* Структурные аспекты адаптации миокарда человека при нарушениях метаболизма / В.Н. Офицеров // Актуальные проблемы кардиологии: Сб. научн. трудов. – Харьков, 1981. – С. 21–22.
22. Структурно-метаболические аспекты долговременной адаптации миокарда при компенсаторной гиперфункции сердца крыс / В.Н. Офицеров, В.М. Денисов, Г.Е. Загоруйко и др. // Актуальные вопросы клинической морфологии: Сб. научн. трудов. – Харьков, 1979. – С. 68–69.
23. *Boliseity S.* Mitochondria and reactive oxygen species: physiology and pathophysiology / S. Boliseity, E.A. Jaimes // Int. J. Mol. Sci. – 2013. – Vol. 14, № 3. – P. 6306–6344.
24. *Mitochondrial pharmacology* / R.A. Smith, R.C. Hartley, H.M. Cocheme, M.P. Murphy. – Trends Pharmacol. Sci. – 2012. – Vol. 23, № 6. – P. 341–352.
25. *Пузырев В.П.* Сфера компетенции митохондриальной генетики / В.П. Пузырев, М.В. Голубенко, М.Б. Фрейдин // Вестник РАМН. – 2001. – № 10. – С. 31–37.

В.С. Єщенко

ДОСЛІДЖЕННЯ МІТОХОНДРІЙ У ХАРЬКІВСЬКОМУ ДЕРЖАВНОМУ МЕДИЧНОМУ УНІВЕРСИТЕТІ

Багаторічні дослідження присвячені вивченню взаємовідношень між мітохондріями і організмом. На експериментальних пухлинах встановлено, що введення мітохондрій, що виділені з пухлинних клітин, підвищує протипухлинну стійкість організму.

Ключові слова: мітохондрії і організм, протипухлинний імунітет.

V.E. Eschenko

RESEARCH OF MITOCHONDRION IN KHARKIV STATE MEDICAL UNIVERSITY

Long-term researches are devoted the study of mutual relations between mitochondrion and organism. It is set on experimental tumours, that introduction of mitochondrion which are abstracted from tumour cages promotes antitumor firmness of organism.

Key words: mitochondrion and organism, atrepsy.

Поступила 15.03.16