

УДК 576.858.75

ДЕЙСТВИЕ ЦИТОПАТОГЕННЫХ И НЕЦИТОПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ ВИРУСОВ ГРИППА А₂ НА ХРОМОСОМЫ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

В. И. ПАВЛИЧЕНКО и А. С. ЛЕЙБЕНЗОН

Введение. Появление новых антигенных вариантов вирусов гриппа приводит к эпидемическому распространению этой инфекции.

По-видимому, скачкообразному появлению новых вариантов предшествует накопление изменений биологических свойств у циркулирующих среди людей штаммов вирусов. Поэтому важно изучать изменения биологических свойств и генетических признаков у штаммов, изолированных в периоды разных эпидемических волн гриппа [1]. Одним из важных биологических свойств вируса гриппа является цитопатогенность, т. е. способность вызывать дегенерацию в клетках тканевых культур, возникающую в результате размножения вируса. Представлялось важным изучить различия в воздействии на хромосомы клеток цитопатогенного и нецитопатогенного вариантов вируса гриппа типа А₂, выделенных от больных в периоды различных эпидемических волн. Данные о воздействии вирусов гриппа А₂ на хромосомы человека немногочисленны и характеризуют только нецитопатогенные штаммы или хромосомные нарушения в лейкоцитах периферической крови больных гриппом [2, 3].

В 1971—1972 гг. в вирусологической лаборатории Запорожской обласанэпидстанции были выделены цитопатогенные варианты вируса гриппа типа А₂, родственные вирусу А₂-68 (Гонконг), а в 1973 г. — нецитопатогенные штаммы, родственные вирусу А₂-72 (Виктория). Цель настоящей работы — изучение воздействий этих различных штаммов одного типа вируса на хромосомы эмбриональных клеток почек человека *in vitro*.

Материалы и методы. Вирусы гриппа. Штамм А₂ № 1090 выделен в декабре 1971 г. из легких трупа (причина смерти — грипп) в культуре первичнотрипсинизированных клеток эмбриональных почек человека (ТЭПЧ). Штамм прошел 14 пассажей в этой культуре. Титр штамма составлял $10^{-4,2}$ ТЦПД_{50/мл}, в культуре ТЭПЧ и $10^{-6,25}$ ИД_{50/мл} в куриных эмбрионах. Цитопатогенное действие (ЦПД) регулярно отмечали через 48 ч при внесении в культуру ТЭПЧ 100 ТЦПД_{50/мл} вируса.

Штамм А₂ № 654 выделен от больного гриппом из глоточного мазка в январе 1973 г. Цитопатогенное действие в культуре ТЭПЧ не отмечено. Титр вируса в куриных эмбрионах $10^{-6,5}$ ИД_{50/мл}. Поскольку титры обоих штаммов в куриных эмбрионах одинаковы и разведение штамма № 1090, равное ТЦПД_{50/мл}, идентично 10 000 ИД_{50/мл} при титровании в куриных эмбрионах, то оба вируса были взяты в опыт в разведении 100 ТЦПД_{50/мл} в объеме 0,1 мл в каждую пробирку с культурой клеток. Следовательно, множественность инфекции при внесении обоих штаммов в культуру ТЭПЧ была одинаковой.

Клетки. Культуру клеток ТЭПЧ выращивали при температуре +37° С в пробирках, на дно которых укладывали предметные стекла размером 0,9X7,5 см, толщиной — 0,2 см. В каждую пробирку вносили 300 тыс. клеток ТЭПЧ в 1 мл стандартной среды. Время культивирования зависело от скорости образования монослоя и составляло 72—96 ч. Перед внесением вирусов в пробирки с ТЭПЧ ростовую среду заменяли средой поддержки (среда № 199). После 12- и 24-часового контакта вирусов с клетками готовили препараты метафазных хромосом по общепринятой методике с незначительными модификациями [4, 5]. В контрольные пробирки вместо вируса вносили по 0,1 мл раст-

вора Хенкса. Всего изучена 441 метафаза, в том числе 111—в контроле. В каждом варианте опыта исследовали 51—103 метафазы. Результаты исследования обрабатывали с применением критерия Пирсона.

Результаты исследований. Анализ полученных данных (таблица) показывает, что aberrации хромосом возникали как в контроле, так и в опыте.

После 12-часового контакта вирусов с клетками выявлено, что штамм № 1090 вызывает $10,68 \pm 0,67\%$ нарушений хромосом, а штамм №654 — $7,41 \pm 0,26\%$ при $3,33 \pm 0,18\%$ aberrаций в контроле. Как видно из этих данных, оба штамма вызывали увеличение числа aberrаций хромосом по сравнению с контролем, но эти различия между опытом и контролем недостоверны ($p > 0,05$).

Аберрации хромосом в клетках почки плода человека, инфицированных двумя вариантами вируса гриппа А₂ (№ 1090 и № 654)

Время воздействия вируса, ч	Вариант вируса	Количество							Общее количество aberrаций	Количество aberrаций, проц.
		исследованных метафаз	парных ацентрических фрагментов	одиночных ацентрических фрагментов	разрывов центромеры	пробелов (щелей) в структуре хромосом	дицентрических хромосом	кольцевых хромосом		
12	—	60	—	1	1	—	—	—	2	$3,33 \pm 0,18$
	№ 1090	103	3	1	—	1	6	—	11	$10,68 \pm 0,67$
	№ 654	54	1	1	—	1	1	—	4	$7,41 \pm 0,26$
24	—	51	2	—	—	—	—	—	2	$3,92 \pm 0,26$
	№ 1090	72	2	1	1	2	3	2	11	$15,27 \pm 0,54$
	№ 654	101	—	2	—	1	5	—	8	$7,92 \pm 0,54$

После 24-часового контакта вирусов с клетками также обнаружено увеличение числа aberrаций хромосом. Штамм № 1090 вызвал $15,27 \pm 0,54\%$ нарушений, а штамм №654 — $7,92 \pm 0,54\%$ при $3,92 \pm 0,26\%$ нарушений в контроле. Показатель соответствия χ^2 между распределением числа aberrантных клеток в культуре, инфицированной цитопатогенным штаммом № 1090, и в контроле составил 4,23, что подтверждает статистическую достоверность различия ($p < 0,05$). Штамм №645 вызвал примерно такое же количество aberrаций, как и при 12-часовом контакте. Следовательно, зависимость между частотой aberrаций хромосом и временем действия выявлена только для штамма № 1090.

Обсуждение полученных данных. Выявлено мутагенное действие вирусов гриппа на клетки почки плода человека. Это согласуется с другими сообщениями [2, 3, 6]. Наиболее существенным и, вместе с тем, наиболее спорным является вопрос о специфике поражений хромосом. В нашем опыте вирус гриппа в основном вызывал образование дицентрических хромосом, тогда как по данным других авторов [2, 3], он вызывает склеивание, фрагментацию, разрывы и лишь незначительное количество дицентрических хромосом. Эти различия, возможно, свидетельствуют о специфике воздействия на хромосомы эпидемических штаммов вирусов гриппа последних лет (1971—1973 гг.). Отмечено также различие в воздействии цитопатогенного и нецитопатогенного штаммов на хромосомы. Воздействие цитопатогенного штамма было более выражено, что выявлялось как в большем количестве пораженных хромосом, так и в увеличении aberrаций при удлинении контакта вируса с клетками с 12 до 24 ч. Этого не отмечено при контакте нецитопатогенного штамма с клетками ТЭПЧ в течение указанного времени.

Выводы. При инфицировании клеток почки плода человека различными штаммами вируса гриппа типа А₂ в последних происходит увели-

чение частоты различных поражений хромосом по сравнению с контролем.

Для цитопатогенных штаммов установлена статистически достоверная зависимость между временем действия и частотой aberrаций хромосом.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. И. Соколов, Р. Я. Порчерняева, В. К. Блинова, Г. В. Корнилаева, В. В. Ритова и др., *Вопр. вирусологии*, 6, 709—713, 1973.
2. М. Н. Медведева, Г. М. Водейко, О. М. Ермолаева, Г. П. Жилова, Д. Б. Голубев, *Вопр. вирусологии и патогенеза респираторных вирусных инфекций*, Л., «Наука», 1970, 229.
3. Н. Н. Ильинских, Е. Ф. Бочаров, Н. В. Пятунина, Н. С. Шашель, *Генетика*, 8, 9, 157—162, 1972.
4. K. H. Rothfels and L. Siminovich, *Stein Technology*, 33, 2, 73—77, 1958.
5. М. Н. Медведева, Е. П. Зверева, Г. М. Водейко, *Вопр. вирусологии и патогенеза респираторных вирусных инфекций*, Л., «Наука», 1970, 151.
6. Г. Р. Михайлова, В. И. Гаврилов, В. В. Плешивцева, В. Н. Блюмкин, *Метаболизм клеточного ядра и ядерно-цитоплазматические отношения*, К., 1970, 237.

Запорожский мединститут,
Запорожская облсанэпидстанция

Поступила
21.11 1974 г.

THE ACTION OF CYTOPATHOGENIC AND NON-CYTOPATHOGENIC STRAINS OF INFLUENZA A₂ VIRUSES ON CHROMOSOMES OF HUMAN EMBRYON CELLS

V. I. PAVLICHENKO and A. S. LEIBENZON

Summary

The mutagenic action of influenza virus is confirmed. The peculiarities of cytopathogenic effect of influenza virus on the cells of the human embryo kidney are found out.