

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

Я. А. ВИННИКОВ

РОСТ И ПРЕВРАЩЕНИЯ В ТКАНЕВЫХ КУЛЬТУРАХ ПЕРЦЕПТОРНОГО ЛИСТКА СЕТЧАТКИ

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 17 VII 1939)

Настоящее исследование завершает серию работ автора, посвященных ретинальным листкам глазного бокала (1-4). Исходным экспериментальным материалом явились глаза эмбрионов кролика от 15 дней внутриутробной жизни и позже, а также новорожденных кроликов до 20-го дня, т. е. уже вполне зрячих животных.

У кролика на ранних эмбриональных стадиях в сетчатке нет еще полного подразделения на наружный и внутренний ядерные слои. Ранее других появляются ганглиозный и внутренний сетчатый слои. Наблюдается активная митотическая деятельность камбиальных элементов так называемого нейроэпителиального слоя, прилегающего к пигментному листку. Митозы прекращаются только на 3—4-й день после рождения. До рождения животного возникает внутренний ядерный слой со всеми нейрональными элементами и наружный ретикулярный. Появление нервных элементов, вступающих в связь друг с другом, идет одновременно с развитием мюллеровских радиальных волокон, представляющих собой основу глиального компонента сетчатки. Мюллеровские волокна образуют также *membrae limitans externa et interna* сетчатки. Интенсивно делящиеся элементы наружного ядерного слоя отличаются своей более темной окраской и характерной структурой ядра, выражающейся в особом строении и распределении хроматина. Из клеток камбиального слоя сетчатки после рождения образуются зрительные элементы с особыми членами — палочки и колбочки. В дифференцированной сетчатке изредка также наблюдаются более интенсивно окрашивающиеся элементы, как глиальные, так и нервные. Особенности строения ядра и более густая окрашиваемость протоплазмы элементов наружного ядерного слоя сохраняются на всю жизнь и у взрослого животного связаны, повидному, с функциональными особенностями. Образование мюллеровских и других опорных элементов сетчатки прослеживается с трудом. Они делаются более заметными только после появления характерной фибриллярности в их цитоплазме. При некотором навыке удается проследить ядра мюллеровских волокон, залегающих в центре внутреннего ядерного слоя, по их форме и структуре.

Изменения описанного исходного материала в тканевых культурах были прослежены как прижизненно, так и на большом числе зафиксированных препаратов в 142 сериях опытов, на протяжении 3 лет. Сроки

эксплантации превышали 48 дней. Кусочки сетчатки, помещенные в висячую каплю из питательной среды, вызывают необычайно интенсивное разжижение фибрина. Уже через 24 час. эксплантат, свободно плавающий в жидкой среде, округляется и превращается в полый пузырек. В таком пузырьке элементы палочек и колбочек обращены наружу, а ганглиозный слой внутрь. Такие пузырьки ведут себя по-разному в зависимости от степени дифференцировки исходного материала. Эмбриональные эксплантаты продолжают свою дифференцировку за счет интенсивно размножающихся элементов наружного ядерного слоя, вплоть до образования наружных и внутренних члеников палочек и колбочек, а также мюллеровских волокон. В пузырьках из более дифференцированного исходного материала гистологическая структура в течение первых суток заметно не нарушается.

Образование пузырьков из эксплантатов сетчатки, живущих и развивающихся долгое время, не может не быть поставлено в связь с общими регулятивными способностями глазного бокала (5). Такие эксплантаты можно определять как «глазки».

После вторых суток в сетчатке, составляющей «глазок», обнаруживаются интересные превращения, протекающие как раз в обратном направлении по сравнению с нормальным онтогенезом. Это явление было в свое время описано и для других частей ретинальных листков глазного бокала. Наблюдается значительная гибель элементов палочек и колбочек, в особенности в местах, где повреждена Mb. lim. ext. Наружные и внутренние членики палочек и колбочек подвергаются пластинчатому распаду. Тело самой клетки набухает, а на месте бывшего членика часто обнаруживается образование тонкого нервного волокна с характерной колбой роста на его дистальном конце. Такие новообразованные волокна могут проникать через отверстия в Mb. lim. ext., в фибрин. Они хорошо заметны как прижизненно, так и на препаратах, окрашенных метиленовой синью или зафиксированных смесью Шампи. Такие волокна живут не более 2—3 дней, никогда не вырастают на большое расстояние, очень нежны, редко разветвляются и анастомозируют. Образование нервных волокон на месте бывших внутренних члеников прослеживается большей частью на материале от более старых животных. Затихшие было митозы на наружном ядерном слое опять появляются в большом количестве. Интенсивное размножение элементов палочек и колбочек вызывает поступление нового клеточного материала во внутренний ядерный слой и изменяет структуру последнего; с другой стороны, на этих же стадиях эксплантации в местах разрыва Mb. lim. ext. четко прослеживается передвижение нагромождающихся друг на друга изменившихся элементов наружного ядерного слоя в фибрин, с образованием в нем обширной зоны роста.

Изменение внутреннего ядерного слоя и ганглиозного протекает одновременно. Ганглиозные элементы обнаруживают регенерацию нервных отростков и новообразование нервных волокон. Нервные волокна далеко вырастают в фибрин, пронизывая насквозь и кусочек и зону роста вокруг. На обработанных по Кахалю, а также на метиленовых препаратах удается определить ход, место возникновения и тонкую структуру этих волокон.

Амакриновые и горизонтальные клетки переживают *in vitro* долгое время, однако прогрессивных изменений в них проследить не удается. Гибель биполяров обнаруживается очень рано. Нервные клетки, окруженные глиальными элементами, живут сравнительно долго. К 30-му дню жизни вне организма они все же начинают деградировать. Часть из них может иногда пассивно увлекаться в зону роста.

Особые изменения обнаруживают мюллеровские волокна. Их апикальные концы, составляющие Mb. lim. internaе, укорачиваются, отчего по-

следняя разрушается. Базальные концы, прилегающие к Mb. lim. ext., могут отрываться. Боковые отростки, при помощи которых волокна связывались в горизонтальном направлении, втягиваются или частично также обрываются. Ядро светлеет и набухает. Тело принимает цилиндрическую веретенообразную форму. В цитоплазме обнаруживаются типичные глиальные фибриллы, которые обычно удается обнаружить с трудом. В связи с гибелью и выселением нервных элементов на этих стадиях, весь внутренний ядерный слой состоит из изменившихся мюллеровских элементов, которые начинают размножаться митотическим путем. Делящиеся клетки внутреннего ядерного слоя мало отличаются от размножающихся элементов наружного. Выселение клеток внутреннего слоя также может идти по двум направлениям: как в сторону Mb. lim. ext., так и в сторону Mb. lim. int. Размножающиеся элементы обоих слоев не всегда выселяются в зону роста. Границы между обоими слоями в таком случае теряются и эти участки весьма напоминают ранние стадии эмбриогенеза сетчатки. На местах прорыва Mb. lim. ext., продвигающиеся в зону роста элементы наружного и внутреннего слоев практически не отличимы. Несколько большим постоянством отличается структура ядер клеток, генетически ведущих свое начало из наружного слоя сетчатки. На поздних стадиях культивирования это отличие полностью стирается. В случае долгой сохранности Mb. lim. ext. разрастание может происходить под ее покровом и эксплантат превращается в комочек с очень запутанным строением. В связи с передвижением большинства элементов в зону роста непрорастающие участки, находящиеся по соседству с местами усиленного роста, значительно обедневают клетками и разрыхляются. В такой обедненной элементами сетчатке во внутреннем ядерном слое удалось обнаружить большие пластинчатые клетки, повидимому, глиальной природы, располагающиеся перпендикулярно к мюллеровским волокнам.

Элементы зоны роста перцепторного листка сетчатки претерпевают уже знакомый цикл превращений, целиком и полностью совпадающий с теми картинами, которые были описаны автором для слепой части сетчатки и в особенности для пигментного слоя зрительного листка. Своеобразие зоны роста выражается в том, что здесь наряду с растущими всевозможными комплексами (эпителиоподобными мембранами, тяжами) и изолированными элементами попадают также нервные волокна. Некоторые особенности наблюдаются в хромосомном наборе делящихся клеток. В цитоплазме прослеживается фибриллярность.

Кроме того на 12—24-й день эксплантации в зоне роста элементы, обнаруживающие свое происхождение из наружного ядерного слоя, могут образовывать длинные, тонкие, нитевидные, протоплазматические тяжи, повидимому, весьма сходные с нервными волокнами. Иногда в давно не вырезавшихся культурах в элементах зоны роста обнаруживаются пигментные гранулы. Превращение и судьба элементов зоны роста перцепторного листка, также как и других участков глазного бокала, *in vitro* протекает по глиальному типу, установленному на разных объектах невральное происхождения в лаборатории проф. Н. Г. Хлопина (6).

Экспериментальный анализ гистогенеза сетчатки в тканевых культурах дает возможность более глубокого понимания процессов, протекающих в этой части глазного бокала. Сходство пигментного и перцепторного листков в условиях эксплантации должно быть объяснено общностью гистологической детерминации и возможностью их превращения друг в друга на определенных стадиях онтогенеза (5). Изложенный фактический материал позволяет сделать заключение о бипотентности камбиального слоя сетчатки, который в процессе онтогенеза дает элементы, развивающиеся как в неврональную, так и в глиальную сторону. Остаток эмбрио-

нального камбия, превращающийся в зрительные элементы, обнаруживает свою дуалистическую природу в экспериментальных условиях. Мюллеровские волокна *in vitro* делаются неотличимыми от пролиферирующих элементов наружного ядерного слоя. Судьба нейронов сетчатки совершенно отлична. Они не могут быть сравниваемы с клетками палочек и колбочек и мюллеровскими волокнами ни по своим функциональным, ни по морфологическим особенностям, которые закреплены в течение их филогенетического пути.

Всесоюзный институт экспериментальной
медицины им. А. М. Горького
Ленинград

Поступило
9 VII 1939

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Я. А. В и н н и к о в, Арх. анат., гист. и эмбр., XV (1936). ² ДАН, XVIII, № 2 (1938). ³ ДАН, XX, № 2—3 (1938). ⁴ Усп. совр. биол., X (1939). ⁵ Д р а г о м и р о в, Roux Arch., 129, 3 (1933). ⁶ Н. Г. Х л о п и н, ДАН, XVIII, № 2 (1938).