

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

З. ИГНАТЬЕВА

**ДИФФЕРЕНЦИРОВКА НЕЙРОБЛАСТОВ В КУЛЬТУРАХ in vitro**

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 16 VI 1938)

Вопрос о природе клеточных элементов в культурах нервной ткани до настоящего времени остается неразрешенным. В работах, вышедших за последнее десятилетие<sup>(1, 2, 3, 4, 6)</sup>, можно найти самое разнообразное мнение о происхождении одних и тех же клеточных форм. Например Капель полагает, что имеющиеся в культуре клетки являются по происхождению нервными клетками, но в процессе культивирования они постепенно дифференцируются и превращаются в эпителиальные клетки. Михалик считает, что все мигрирующие клетки в культуре являются макрофагами—микроглиальными элементами, Оливо<sup>(1)</sup>, Леви<sup>(5)</sup>—нейробластами и т. д. Эти разногласия возникают очевидно оттого, что исследователи оперируют в большинстве случаев с разнообразным материалом, часто даже без точного указания отдела нервной системы, откуда он взят.

Считая возможным, что различные участки центральной нервной системы могут отличаться характером роста в культуре, мы приступили к последовательному изучению всех ее основных отделов. Прежде всего мы остановились на изучении ткани полушарий головного мозга.

Целью данного исследования было изучение природы клеточных элементов и их превращений в процессе культивирования. Эксплантируя нервную ткань, взятую от эмбрионов различного возраста, мы пытались выяснить, какими потенциями обладает нервная клетка на той или иной стадии развития организма. Разрешение поставленных вопросов мы считаем чрезвычайно важным для понимания многих неясных сторон процесса дифференцировки нервной ткани.

**Материал и методика.** Ткань полушарий головного мозга была взята от куриных эмбрионов в возрасте от 5 дней инкубации до вылупления, а также от 1—2-дневных цыплят. Кусочки культивировались методом висючей капли в кровяной плазме с прибавлением эмбрионального экстракта, разбавленного жидкостью тироде в пропорции 1 : 3. Пересадки не производились. Рост культур от 20 до 144 час. Фиксаторы: нейтральный формол, разведенный физиологическим раствором 1 : 4, спирт 96°, ценкер-формол и «Карнуа». Окраски: гематоксилин, толуидин-блау и шарлах-рот. Серебрение культур методом Большовского.

**Собственные исследования.** Изучение большого материала убеждает нас в том, что разнообразные клеточные элементы, встречающиеся в зоне миграции, могут быть разделены на 3 группы:

1. Мелкие, веретеновидные клетки, с округлым компактным ядром и мелко гранулированной протоплазмой.

По мнению ряда авторов (1, 5, 4, 2) данные клетки являются нейробластами, способными при культивировании дифференцироваться, развивая отростки.

Михалик странным образом об этих клетках не говорит ничего. По нашим наблюдениям эти клеточные формы, особенно в большом количестве, встречаются в культурах молодых эмбрионов 5—9-дневной инкубации. Их массовая миграция в большинстве случаев наблюдается уже через сутки после эксплантации. Она протекает следующим образом: от кусочка лучеобразно отходят широкие плазматические тяжи с большим количеством ядер. Тяжи эти тянутся через появляющуюся почти сразу зону разжижения вокруг кусочка и идут в глубь окружающей среды. На препаратах, окрашенных гематоксилином, границ клеток обнаружить не удастся; после же серебрения их веретеновидная или округлая форма хорошо выявляется. Серебром тяжи окрашиваются в желтовато-коричневый цвет, клетки в темнокоричневый.

Достигая границы зоны разжижения, клетки выселяются в окружающую среду и располагаются рядами. Обильно развивающиеся отростки идут на далекое расстояние, по пути перекрещиваются и образуют густые сплетения. По мере выселения клеток плазматические тяжи утончаются и к моменту окончания массовой миграции клеток (на 3—4 день после эксплантации) они имеют вид или узеньких полосок с небольшим количеством клеток или отдельных нитей. Такие плазматические тяжи иногда встречаются и без сопровождения клеток, но нам удалось проследить, что они всегда отходят от группы клеток, расположенной в эксплантате. Иногда можно было также видеть, как от одной, мигрирующей из кусочка клетки тянется такой нитевидный отросток, пересекает зону разжижения и теряется в окружающей среде. После серебрения он окрашивается в желтый цвет. Нередко в глубине сгустка плазмы встречаются изолированные веретеновидные клетки с несколькими отростками, из которых один значительной длины. Методами серебрения нам пока не удалось добиться типичной для нервной клетки окраски отростков, нейрофибрилярный же аппарат в теле клетки хорошо импрегнируется в виде тонких черных нитей.

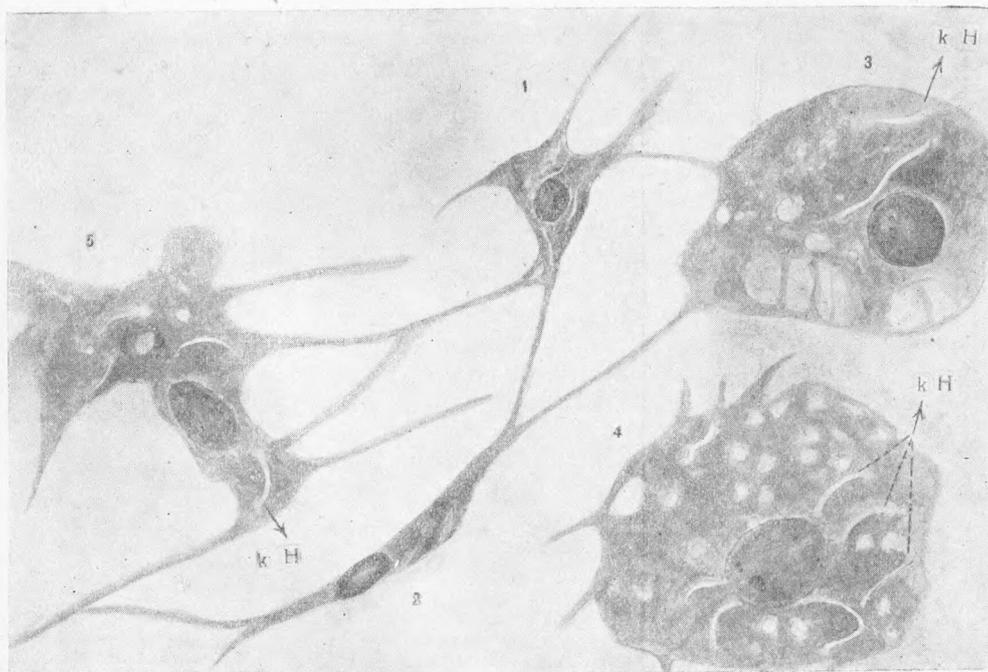
В культурах особенно молодых эмбрионов (5—6 дней инкубации) в этих клетках нередко наблюдаются митозы. При витальном окрашивании культуры они накапливают нейтраль-рот в ничтожном количестве. Палочковидные хондриосомы расположены по всему телу клетки.

Патологические изменения, развивающиеся в данных клетках при культивировании, по своему характеру весьма близки к тем, которые мы часто наблюдали в нервных клетках *in situ* при некоторых заболеваниях. Одним из характерных признаков начала дегенеративного процесса в нервной клетке мы считаем появление в протоплазме последней канальцев Гольмгрена. Вначале одиночные, затем в виде сети они пересекают тело клетки во всех направлениях. Обычно это явление сопровождается значительной вакуолизацией протоплазмы. Изменения эти обратимы только в том случае, если не вовлечено ядро.

В описываемых нами клетках все эти изменения структуры можно наблюдать приблизительно на 4—5-й день после эксплантации.

Учитывая все вышесказанное, мы пришли к выводу, что эти клетки являются клетками нервной природы. На ранних стадиях развития эмбрионов (до 6—7 дней инкубации) они являются еще недифференцированными и могут дать как макроглиальные клетки, так и настоящие нервные. На это указывает, во-первых, то обстоятельство, что серебром их отростки не вычеркиваются типичным образом и, во-вторых, большая их жизнеспособность при культивировании и способность к дифференцировке—разви-

тие отростков. В культурах из тканей старых эмбрионов и цыплят эти клеточные элементы хотя и представлены в значительном количестве, но такой массовой их миграции не наблюдается. Величина их несколько уменьшена, но структура ядра, форма тела и развивающиеся отростки полностью напоминают вышеописанные клетки. Вся основная масса этих клеток образует неплотный пласт. Здесь возможно мы имеем уже дело с макроглиальными элементами. Они проявляют большую устойчивость при культивировании по сравнению с дифференцированными нервными клетками, которые в это время уже содержат дегенеративные признаки в своей структуре.



Культура из полушарий головного мозга 17-дневного куриного эмбриона. Рост 96 час. Фиксация центер-формол. Окраска гематоксилин. Зона миграции. 1 и 2—клетки 1-го типа; 3, 4 и 5—клетки 3-го типа; к Н—каналцы Гольмгрена в протоплазме нервных клеток.

2. Небольшие, изолированные, круглые клетки. Они встречаются как по ходу тяжей, так и между ними. По поверхности их тела имеется как бы лучистость в виде тонких коротких выростов. Характерным для них является быстрое ожирение. Нейтраль-рот обычно накапливают в виде крупных гранул. О природе этих клеток в настоящее время мы еще не можем решить, но считаем возможным, что они относятся к макроглиальным элементам.

3. Крупные клетки разнообразной формы. В большом количестве среды мигрирующих элементов они встречаются только в культурах эмбрионов старших возрастов. По времени их миграция начинается гораздо позднее других клеток. При этом они уже имеют дегенерирующий вид. Характерным для них является присутствие каналцев Гольмгрена, вакуолизация протоплазмы и отодвинутое к одному краю ядро. Отростки нередко еще сохраняются, но иногда клетка оказывается совсем округлившейся. При изучении срезов культур из старых эмбрионов можно видеть, что крупные

нервные клетки часто округляются еще в кусочке, и в их протоплазме имеются уже патологические признаки. Такие измененные клетки мигрируют из эксплантата и в окружающей среде принимают самую разнообразную форму. Попадая на стекло, они распластываются и принимают вид пластинок. Большею частью они лежат изолированно, но нередко, особенно при наблюдении за живыми культурами, можно их видеть соединенными при помощи отростков с мелкими веретеновидными клетками (фигура). При витальном окрашивании они, как и все дегенерирующие клетки, накапливают крупными гранулами нейтраль-рот.

Дальнейшие изменения этих клеток протекают следующим образом: ядро сжимается и отодвигается к одному краю тела, вакуоли увеличиваются и клетка приобретает перстневидную форму, отростки постепенно дегенерируют. Нейрофибрилярного аппарата в этих клетках обнаружить не удастся, да это и понятно, т. к. нейрофибриллы являются очень чувствительной и быстро дегенерирующей структурой. Наше мнение об этих клетках таково: это — дифференцированные нервные клетки, которые в культурах способны только короткое время переживать, а затем быстро дегенерируют и гибнут. Таким образом мы согласны с Капелем, что эти формы являются дифференцированными нервными клетками, но не имеем никаких данных, что они при культивировании дедифференцируются и превращаются в эпителиальные клетки. Это стадия дегенерации, а не прогрессивные изменения. С выводами же Михалика, что все мигрирующие клеточные формы являются макрофагами-микроглиальными элементами, мы согласиться не можем. Хотя нервные клетки в процессе дегенерации и могут приобретать внешний вид, имеющий некоторое сходство с макрофагами, но при учете характерных патологических признаков больной нервной клетки всегда возможно их различать друг от друга.

Институт эволюционной морфологии.  
Академия Наук СССР.

Поступило  
25 VI 1938.

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> O. O l i v o, Arch. f. exper. Zellforsch., 4 (1927); 5 (1928). <sup>2</sup> O. K a p e l, ibid., 5 (1928); 8 (1929). <sup>3</sup> P. M i h a l i k, ibid., 17 (1935). <sup>4</sup> T. L a z a r e n k o, ibid., 11 (1931). <sup>5</sup> G. L e v i, Ergebn. d. anat. u. Entw.-Geschichte, 31 (1934). <sup>6</sup> S. M o s s a, Arch. f. exper. Zellforsch., 7 (1928).