

МЕХАНИКА РАЗВИТИЯ

А. В. РУМЯНЦЕВ и Л. Ф. БЕРЕЗКИНА

К ВОПРОСУ ОБ ИНДУЦИРУЮЩЕМ ДЕЙСТВИИ ХРЯЩА IN VITRO

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 4 VII 1938)

Гайар (1) показал, что в чистых культурах остеобластов из *Os frontale* куриного эмбриона можно получить в длительном опыте развитие костной ткани при условии последовательного добавления к культивируемой ткани экстрактов из 4-, 7-, 10-, 15- и 18-дневных эмбрионов и одновременном замедлении роста. В недавно опубликованных наших опытах (2) мы пришли к тем же результатам, экспериментируя с мезенхимой. Мы установили, что из чистых культур мезенхимы можно, добавляя к среде экстракт из развивающихся костей одного возраста, получить образование типичного хряща. Так как в отсутствие экстракта (контрольные культуры) и в культурах из подкожной соединительной ткани, выращиваемых с добавлением экстракта при одновременном замедлении роста, хрящевой ткани не развивалось, мы пришли к заключению, что в экстракте из развивающейся кости присутствуют какие-то материальные начала, активирующие процессы образования основного вещества. Но эта активация очевидно возможна только в тех культивируемых тканях, у которых сохраняется или имеется способность к образованию плотного основного вещества. Таковой тканью можно считать только мезенхиму и ее основное вещество. Можно допустить, что в основном волокнистом веществе мезенхимы, которое, как мы показали [Румянцев и Сунцова (3)], всегда организуется в культурах, имеются все необходимые начала для развития плотного основного вещества, но активирующих веществ, содействующих или возможно направляющих и организующих процесс, не имеется. Эти вещества привносятся из развивающейся кости, где они могут находиться в достаточном количестве. Устанавливая таким образом необходимость наличия детерминированной ткани для развития специфических структур основного вещества и подтверждая это опытом с отрицательным воздействием костных экстрактов на ткань из сердца и подкожной клетчатки, мы тем самым должны были высказать некоторое сомнение в возможности получить развитие хряща в различных культивируемых *in vitro* тканях, при условии внесения в культуру кусочка старого хряща, или «индукцию хряща старым хрящем», как это описывал А. Фишер (4). Для проверки его наблюдений, столь важных и теоретически и практически, нами были поставлены соответствующие опыты.

Материал и методика нашей работы были таковы. К чистым культурам из подкожной соединительной ткани куриного эмбриона 15 дней и к культурам из сердечной мышцы 7-дневного зародыша подсаживались кусочки

хряща, взятого от Меккелева хряща вылупившегося цыпленка. Меккелев хрящ представляется нам весьма удобным материалом, поскольку А. Н. Студитским в нашей лаборатории было показано, что *in vitro* Меккелев хрящ эмбриона поздних стадий (начиная с 12—13 дня) не растет совсем. Подсаженный к культуре кусочек хряща очень быстро обрастал со всех сторон растущей тканью культуры и на 2—3-м пассаже после подсадки оказывался обыкновенно в центре эксплантата. Создавая для центральной зоны условия замедленного роста и вызывая тем самым уплотнение ткани вокруг кусочка так, как это делалось в нашей предыдущей работе, т. е. обрезанием только зоны роста при пересадках, мы в конце концов спустя 8 пассажей (25 дней) получили плотную, совершенно непрозрачную волокнистую массу ткани вокруг хряща, напоминающую *in vivo* развивающуюся кость.

Результаты. Культуры с подсаженным хрящем и контрольные их половинки без подсадки хряща были зафиксированы в сроки от 14 до 25 дней с начала опыта, разложены на срезы и окрашены различными гистологическими методами. Изучение этих культур показало, что ни в одном случае в ткани культуры не образовалось хряща. Мы могли с совершенной точностью установить, что подсаженный хрящ в большинстве культур (кроме одной) не обнаруживал никаких признаков роста. Клетки его дегенерировали, основное вещество изменялось (слегка разжижалось), и в нем появлялись волокна, окрашивающиеся в голубой цвет от анилин-блау, — «явление демаскировки». Этот общий процесс разрушения хряща, подсаженного к соединительной ткани, очень подробно описал Руле⁽⁵⁾; в основном наши наблюдения вполне согласуются с его описаниями. Однако нам пришлось наблюдать и такой тип разрушения и распада хряща, когда фиброциты играют весьма активную роль. Набухшее и слегка демаскированное основное вещество при культивировании хряща с соединительной тканью начинает разжижаться, и в него с периферии врастают фиброциты.

Попавшая в капсулы с остатками распадающихся хрящевых клеток, фиброциты округляются, и тогда имитировали молодые хрящевые клетки. Вокруг хрящевого кусочка обычно развивалось уплотнение ткани, а в случае культур из подкожной клетчатки в этой уплотненной ткани образовывались коллагеновые волокна. Мы не могли подметить какого-либо специфического влияния хряща на фибриллообразование. При просмотре наших препаратов нам казалось, что волокнистые структуры развивались тем больше, чем глубже был распад хряща. В одном случае на месте распавшегося и растворенного хряща в центре культуры образовался весьма мощный клубочек концентрических волокон, типично красящихся по Маллори.

За слоем волокон обычно располагалась уплотненная зона клеток, а за нею зона роста. В культурах из мышечной ткани вокруг хряща тоже развивались фибриллы, причем более мощные, чем это имело место в контрольных, где к 10-му пассажу коллагеновые фибриллы развиваются, но всегда тонкими небольшими пучками. Но хрящевой ткани или намека на развитие таковой мы никогда не видели ни в одной из культур. Таким образом приходится признать, что ни в случае подкожной соединительной ткани, ни в случае ткани миокарда мы не получили «индукции хряща хрящем». Однако образование волокнистых структур, и в частности образование коллагеновых волокон, несомненно усиливалось.

Не получилось никаких индукций и в тех случаях, когда подсаживался хорошо растущий хрящ, взятый из глазной капсулы эмбриона в то время, когда он состоит из хряща. Культивируя его в течение 19 дней с тканью миокарда 6-дневного эмбриона, мы наблюдали рост хряща

путем деления его клеток, дегенерацию его основного вещества, вращание в него фиброцитов, но ни разу не наблюдали образования хрящевой ткани, которая не находилась бы в связи с высаженным кусочком. Замечательно, что фибриллообразование в ткани опытной культуры усиливалось настолько, что растущая мышечная ткань делалась похожей на типичную соединительную ткань.

Если наши наблюдения верны, а мы в этом уверены, то и опыты Данини⁽⁶⁾, проведенные на животных, мы тоже должны считать недостаточно убедительными. В наших культурах мы часто видели на срезах как бы образование хрящевых капсул вокруг клеток, лежащих на некотором расстоянии от кусочка хряща, причем как раз такое, какое описывает Данини за предхрящевые стадии. Однако при внимательном просмотре срезов можно было установить, что эти крайние клетки принадлежат кусочку подсаженного хряща, принявшего в культуре неправильную форму, а может быть имевшего неправильную форму при посадке. Другими словами, можно было бесспорно убедиться в том, что эти «обособившиеся» клетки представляют стадии распада хряща, а не его образования.

Отрица возможность получить хрящ из подкожной соединительной ткани или из ткани миокарда, мы тем самым отрицаем возможность передифференцировки ткани, или, вернее, возможность ее метаплазии, еще до сих пор защищаемую некоторыми патогистологами и патологами. Упорное сохранение качеств тканями и их комплексами есть не только постулат, но и общий закон развития целостных животных систем. Объяснение Данини, что в подкожной соединительной ткани сохраняются клетки с мезенхимной потенцией, мы то же не считаем убедительным.

В ы в о д ы

Подсаженные к культурам из подкожной клетчатки 15-дневного куриного эмбриона и из мышц миокарда 7-дневного эмбриона кусочки хряща, взятые из Меккелева хряща цыпленка тотчас же по вылуплении, не растут, но несомненно усиливают образование коллагеновых фибрилл. Это усиление коллагенообразования еще отчетливее выявляется при введении растущего хряща в культуры из ткани миокарда 6-дневного эмбриона. Индуцирующего влияния хряща на окружающие его ткани, подобно описанному А. Фишером, мы не смогли получить, поэтому мы не можем назвать хрящ организатором хрящевой ткани. Усиление фибриллообразования при наличии хряща вполне понятно. Распадаясь и растворяясь в основном веществе культуры, хрящ очевидно обогащает эту среду продуктами распада коллагена, которые вероятно и представляют материал, идущий на фибриллообразование, тем самым усиливая его.

Лаборатория гистогенеза
Института эволюционной морфологии
им. А. Н. Северцова.

Поступило
17 VII 1938.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Gaillard, Protoplasma, 25, 145 (1935). ² Румянцев и Березкина, Архив анат. и гистол., 17, 179 (1937). ³ Румянцев и Сунцова, Arch. f. exper. Zellforsch., 175, 328 (1935). ⁴ A. Fischer, Roux'Archiv, 125, 203 (1931). ⁵ Roulet, Arch. f. exper. Zellforsch., 17, 1 (1935). ⁶ Данини, Ученые записки Пермского университета, 2, 3 (1936). ⁷ Данини, Bull. d'histol. app., 14, 223 (1937).