

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

А. РУМЯНЦЕВ

ВЛИЯНИЕ ИЗБЫТКА ХЛОРИДОВ Na, K, Ca НА ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИЕ СТРУКТУРЫ ЭМБРИОНАЛЬНОЙ ТКАНИ

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 11 XI 1938)

В нашей работе (1) мы установили, что избыток того или иного хлорида действует на растущие *in vitro* клетки, причем CaCl_2 вызывает сжатие протоплазмы, ведущее к уменьшению величины ядер на 40%, а в KCl очень быстро наступает вакуолизация протоплазмы и набухание хондриома. Та же тенденция к вакуолизации и набуханию проявляется и при избытке NaCl.

Вакуолизацию клеток мы рассматривали, как следствие набухания, а сжатие, как процесс ее уплотнения. Наше предположение предстояло проверить. Поскольку изменения цитоструктур при набухании и отбухания протоплазмы установлены довольно точно, в частности и нами (2), мы решили изучить эти изменения в наших опытах. Материал: кусочки из ткани миокарда 6—8-дневного эмбриона курицы. Среда—1-я серия: капля испытуемого раствора хлорида + минимальная капля плазмы; 2-я серия: 1 часть плазмы + 2 части испытуемого раствора. Культуры ставились на стекле и на 2—3 сутки изучались в проходящем свете или в темном поле. Витальная окраска нейтральной красной (NR) или зеленым янусом (J. G.). Всего в нашем распоряжении было по 250 культур каждой серии, из них 50 контрольных.

1-я серия давала нам указания на специфичность воздействия и служила дополнением 2-й, являющейся основной. В 1-й серии ткань росла практически в жидкой среде. При наличии KCl и CaCl_2 рост был очень плохой, более или менее порядочные зоны мы видели только при NaCl; культуры быстро дегенерировали. Мы могли подметить след. изменения.

NaCl. Рост по стеклу. Зона роста состоит из распластанных клеток. Протоплазма их прозрачна, жировые капли небольшие, и их меньше, чем в контроле. Клетки по форме то полигональные, то округлые, то вытянутые. Уже на первые сутки протоплазма вакуолизуется. На вторые сутки почти все клетки вакуолизованы и имеют явные признаки отмирания. Хондриосомы на 1-е сутки типичны, т. е. лентовидны; на 2-е сутки, когда проявляется вакуолизация, они часто представлены округлыми образованиями или же очень толстыми палочками. Витальная окраска происходит быстро. На 2-е сутки после NR возникают гранулы двух типов: мелкие с шапочками и крупные, окрашивающиеся сплошь с оранжевым оттенком—эти последние представляют вакуоли, наблюдавшиеся и без окраски. В темном поле протоплазма оптически пуста. При продолжительном окрашивании большого количества новых грануляций не обнаруживается.

В ядрах клеток на 2-е сутки появляются изменения, выражающиеся в потере правильной формы и появлении блестящих глыбок.

В культурах 2-й серии вакуолизация только на 2-е сутки: вакуоли обычно не крупные. Вакуолизированные клетки имеют измененные хондросомы, а NR выкрашивает вакуоли и гранулы так, как описано выше, но количество грануляции у них образуется всегда меньше, чем в контроле.

В ядрах никаких изменений не наблюдается. В некоторых случаях растущие клетки в результате слияния экзоплазмы образовывали сплошную мембрану. Таким образом, поскольку и характер, и направление изменений одинаковы в двух сериях, мы можем сделать заключение, что при избытке NaCl происходят такие же изменения цитоплазматических культур, как и при набухании.

КС1. Серия 1-я. Вышедшие в среду клетки в большинстве случаев не имеют звездчатой или отростчатой форм: они округлы или полигональны, протоплазма их явно вакуолизирована. На 2-е сутки, а иногда уже на 1-е, отдельные клетки сливаются друг с другом и образуют большие вакуолизированные пласты с измененными, неправильной формы ядрами; иногда впрочем пластов не образуется, но протоплазма распластанных по стеклу клеток всегда сильно вакуолизирована, причем вакуоли достигают величины ядра, как это наблюдал и Möllendorff (3). После окраски подобных культур можно установить, что хондриом представлен толстыми палочками и округлыми взбухшими зернышками. NR—грануляций мало, но зато интенсивно окрашены вакуоли протоплазмы, причем отложившаяся краска приобретает оранжево-красный оттенок. При длительном воздействии НК новых гранул и вакуолей не образуется, но зато краска постоянно флокулирует в вакуолях. В темном поле протоплазма оптически пуста и обнаруживает энергичное движение жировых частиц; их немного, и они мелкие.

В культурах 2-й серии наблюдаются те же изменения, но выражаются они не так сильно. На 2-й день протоплазма большинства клеток вакуолизуется; появляется тенденция к образованию бесклеточных пластов. Протоплазма оптически пуста и разжижена; хорошо заметно брауновское движение частиц жира. Хондриом изменен и укрупнен, но не образует таких комочков и набухших глыбок, как в серии 1-й. При длительном воздействии NR новых окрашенных гранул в сильно вакуолизированных клетках не появляется. Все это вместе взятое говорит за то, что и в КС1 наступает значительная гидратация протоплазмы; она выражается в сильном укрупнении водных фаз, в результате чего и появляются вакуоли значительного размера.

CaCl₂. Рост всегда плохой. В небольшой зоне культур 1-й серии, если она вообще образуется, распластанных полигональных клеток почти не встречается. Клетки или вытянутые, или угольчатые, но всегда с тонкими отростками. Среди угольчатых клеток попадаются мелкие с короткими, но разветвленными отростками. Жировые капли в протоплазме всегда мелкие. В протоплазме клеток иногда можно заметить мелкую вакуолизацию; по краям зоны роста наблюдаются сжатые округлившиеся клетки, они малы и обнаруживают явно дегенерационные признаки. После окраски NR и J.G. можно убедиться, что NR накапливается в виде мелких гранул, расположенных в эндоплазме; их количество при длительном воздействии увеличивается, хотя по размерам они остаются такими же. Хондросомы или в виде мелких зернышек, или в виде тонких палочек, лентовидных, как в норме, или как в NaCl, почти не встречаются. В темном поле протоплазма светится молочным матовым светом; брауновского движения не обнаруживается, не наблюдается и токов протоплазмы.

Во 2-й серии форма клеток преимущественно веретеновидная или же угольчатая, но встречаются и распластанные клетки. Все клетки связаны

тонкими отростками. Хондриосомы почти нормальны. Жировые капли мелкие. NR грануляций много, они мелкие и имеют явную тенденцию увеличиваться при длительном воздействии краски. Подобные изменения, особенно если принять во внимание уменьшение клеток (1), несомненно говорят за дегидратацию протоплазмы, наступающую при избытке в среде CaCl_2 . На 2-й день по краю зоны роста много дегенерирующих клеток.

Сравнивая полученные результаты с тем, что известно по действию катионов на протоплазму, мы приходим к выводу, что наши наблюдения находятся в полном согласии со взглядами Spek (4), Chambers (5), Fouré-Fremiet (6), Gellhorn (7) и др., утверждающих, что Na и K вызывают разжижение, а Ca—уплотнение протоплазмы. Мы добавляем к этому, что этот эффект наблюдается не только тогда, когда эти катионы испытываются отдельно, но и тогда, когда один из них находится в избытке, как это имело место в наших опытах. Далее, после работы Spek (8), Chambers a. Reznikoff (5), Lepeschkin (9) и др. надо считать, что замутнение протоплазмы является указанием на начинающуюся коагуляцию под влиянием проникшей в протоплазму соли. В CaCl_2 (серия 1) замутнение наблюдалось уже на 1-е сутки, в NaCl (серия 1) только тогда клетки начинали отмирать, т. е. на 2—3 сутки. Вакуолизация же протоплазмы наблюдалась во всех случаях. Это указывает, что Na, K и Ca действуют не только на поверхность, но и проникают внутрь клетки. Мы очень мало знаем о механизме воздействия проникших катионов на частицы протоплазмы, однако мы можем утверждать, что различные катионы действуют по-разному.

Уже по одному тому, что изменяется окрашиваемость и отложение NR (быстрое окрашивание в KCl и NaCl, медленное в CaCl_2), неспособность образовывать новые гранулы (Крином по Хлопину) (в KCl и NaCl в противоположность CaCl_2) указывает, что протоплазма находится в различных состояниях, и проницаемость ее изменена.

Не анализируя этих состояний протоплазмы, мы решили разобрать только один доступный нашему исследованию вопрос, а именно, обратимы ли получающиеся явления отмишования и коагуляции или же они являются знаком начавшейся необратимой дегенерации. Для решения этого вопроса мы на 3-й день культивирования разрезали типично измененные от действия той или иной соли кусочки ткани и пересаживали их в новую, нормальную среду (1 ч. плазмы + 1 ч. эмбрионального экстракта). Уже через сутки в зоне роста мы видели здоровые клетки, ничем не отличавшиеся от контрольных. Большого количества остатков клеток или же клеток, явно дегенерирующих, мы не видели и на 2-й день, что указывает, как нам кажется, на полную обратимость подобных явлений, как вакуолизация протоплазмы, набухание и частичный развал хондриома, появление мелкой зернистости и т. д. Только в тех случаях, когда происходило образование пластов (культуры в KCl) или же ядра клеток принимали угольчатую или неправильную форму, роста при пересадках не наблюдалось, т. е. в плазмах появлялись необратимые изменения.

Отделение гистогенеза.
Институт эволюционной морфологии
им. акад. А. Н. Северцова.
Академия Наук СССР.

Поступило
11 XI 1938.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. Румянцев, ДАН, XX, № 7—8 (1938). ² А. Румянцев, Арх. анат. гист., VII, II (1928). ³ Möllendorff, ZS. f. Zellf., 23, 745 (1936). ⁴ Spek, Act. Zool., 165 (1921). ⁵ Chambers a. Reznikoff, J. Gen. Phys., 8, 369 (1926). ⁶ Fouré-Fremiet, Protoplasma, 6, 521 (1929). ⁷ Gellhorn, Das Permeabilitätsproblem (1929). ⁸ Spek, Arch. f. Protist., 46, 166 (1925); Protoplasma, 4, 321 (1928). ⁹ Lepeschkin, Protoplasma, 2, 239 (1927); Kolloidch. d. Protoplasma, II Aufl.