

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

З. П. ИГНАТЬЕВА

ДАЛЬНЕЙШИЕ НАБЛЮДЕНИЯ НАД ДИФФЕРЕНЦИРОВКОЙ НЕРВНОЙ ТКАНИ, ВЗЯТОЙ ОТ ЭМБРИОНОВ РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТОВ, В КУЛЬТУРАХ IN VITRO

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 4 I 1940)

Изучению генеза клеточных элементов нервной ткани в культуре стало уделяться внимание только за последнее десятилетие. До этого времени, хотя и описывались те или иные клеточные формы, но это делалось лишь попутно, главное же внимание обращалось на изучение роста и развития нервных волокон.

В работах Каппеля, Леви, Оливо, Лазаренко, Михалика, Серебрякова, Бауэра и др. приводится довольно большой фактический материал по изучению природы клеточных элементов.

Уделено также довольно много внимания вопросу о взаимоотношениях различных клеточных групп между собой.

Основным недостатком этих, во многих отношениях очень ценных, исследований является отсутствие в них последовательности изучения материала по возрастам культивируемых эмбрионов.

Между тем возраст эмбриона играет решающую роль при изучении природы клеточных элементов, и игнорирование этого факта неизбежно ведет к противоречивым и нередко ошибочным выводам. Все имеющиеся данные по клеточным элементам, почти без исключения, были получены при изучении культур нервной ткани, взятой от эмбрионов очень немногих стадий развития.

Таким образом при описании тех или иных клеточных форм оставалось совершенно неизвестным, встречаются ли определенные клетки во всех возрастах или же они характерны только для какой-нибудь одной стадии развития.

Отсутствие сравнительного изучения по возрастам культивируемой ткани служило причиной также и того, что до настоящего времени не описаны ни отличительные признаки роста, ни характер зоны миграции клеточных элементов в культурах из молодых и старых эмбрионов. Между тем трудно предположить, чтобы ткань, высаженная на различных стадиях своей дифференцировки, вела бы себя в культуре совершенно одинаково. И действительно, полученные нами данные показали, что культуры от 5—6-дневных эмбрионов по своему клеточному составу, интенсивности миграции элементов, а также характеру роста резко отличаются от культур 18—20-дневных эмбрионов, и сравнение клеточных элементов этих культур должно быть очень осторожным.

Исходя из этих предпосылок, мы предприняли систематическое изучение характера роста и зоны миграции клеточных элементов культур нервной ткани, взятой от эмбрионов различных возрастов.

М а т е р и а л и м е т о д и к а. Ткань полушарий головного мозга была взята от куриных эмбрионов каждого дня инкубации, начиная с 5 дней инкубации до вылупления, а также 1—2-дневных цыплят. Кусочки культивировались методом висячей капли в кровяной плазме с прибавлением эмбрионального экстракта, разбавленного жидкостью Тирде в пропорции 1 : 3. Пересадки не производились. Рост культур исследовался от 20 до 144 час. Фиксаторы: нейтральный формол, разведенный физиологическим раствором 1 : 4, спирт 96°, ценкер-формол. Окраски: гематоксилин, толуидин-блау и шарлах-рот. Серебрение культур методом Бильшовского с пиридином. Культуры изучались как на тотальных препаратах, так и на серийных срезах.

Культивирование ткани полушарий головного мозга эмбрионов 5—7 дней инкубации показало, что рост начинается с первых часов после эксплантации кусочка. Через сутки культура имеет очень богатую зону миграции, состоящую почти исключительно из мелких веретеновидных или треугольных клеток с мелкогранулированной протоплазмой и округлым ядром компактного строения. Обработка различными методами убеждает нас в том, что эти клетки являются еще недифференцированными элементами, которые в процессе культивирования, особенно длительного, могут дать как нервные, так и глиальные клетки. В культурах 5—6-дневных эмбрионов можно часто видеть их на различных фазах митотического деления. Дифференцировка этих клеток, особенно в первые 2—3 суток, идет преимущественно в направлении нейробластов. Мигрируя в окружающую среду, эти клетки развивают сильно ветвящиеся отростки, образующие часто густые сплетения, увеличивают свой объем, но не расплываются, меняют несколько морфологию ядра и приобретают все свойства нейробластов. Помимо этих клеток, встречаются единичные, небольшие, изолированные круглые клетки с тонкими, короткими протоплазматическими выростами по поверхности тела. Как по внешнему виду, так и по поведению они очень напоминают макрофагов других тканей. Мы их считаем микроглиальными элементами. В культурах они интенсивно фагоцитируют и быстро гибнут—ожиревая. На четвертые сутки клетки обеих групп имеют уже явно дегенеративный характер, и на 5—6-й день культура гибнет.

Эксплантация ткани эмбрионов 8—13 дней инкубации дает почти без исключения хороший рост. Отличительными признаками, в сравнении с описанными выше культурами, являются следующие: микроглиальные клетки представлены в большем количестве и в зоне миграции среди мелких, веретеновидных клеток начинают встречаться крупные клетки разнообразной формы. Иногда эти клетки еще сохраняют свои хорошо развитые отростки, но чаще имеют округлую форму и ясные признаки дегенерации их структур. Применяя различные методы окрасок и серебрения, мы приходим к выводу, что это дифференцированные нервные клетки, которые в культурах способны только короткое время переживать, а затем окончательно дегенерируют и гибнут. Патологические процессы, наблюдающиеся в этих клетках, вполне соответствуют тем, которые возникают в нервной клетке организма при некоторых его заболеваниях.

Культивирование ткани эмбрионов 14—17 дней инкубации показало, что по скорости и характеру роста она является как бы переходной к тканям старших возрастов, т. е., с одной стороны, мы получаем в первые же сутки хороший рост, а с другой,—уже вполне ясно намечен известный

латентный период. Характерным для этих культур является значительное количество дифференцированных нервных клеток в зоне миграции. Клетки эти обычно имеют в своей структуре уже целый ряд дегенеративных признаков, т. е. каналцы Гольмгрена, вакуолизацию протоплазмы, измененное ядро. Изучение серийных срезов культур убеждает нас в том, что дифференцированные нервные клетки начинают изменяться еще в кусочке эксплантата, причем они или остаются на месте и постепенно разрушаются, или же на различных стадиях дегенерации мигрируют в окружающую среду и там погибают.

В противоположность этим клеткам мелкие веретеновидные формы, встречающиеся в зоне миграции, имеют вполне здоровый вид. По количеству они и здесь являются преобладающими, но миграция их более ограничена, чем у молодых эмбрионов. В культурах же 16—17-дневных эмбрионов можно отметить стремление этих клеток к росту пластом (эпителиевидного характера). Микроглиальные клетки представлены в большом количестве.

Эксплантация нервной ткани эмбрионов 18—21 дней инкубации и 1—2-дневных цыплят. Самым типичным признаком при культивировании ткани этих возрастов является ясно выраженный латентный период, который может длиться при эксплантации ткани цыпленка до 60—70 час. По характеру роста эти культуры резко отличаются от культур из молодых эмбрионов. Отличительным признаком является ясно выраженная тенденция мелких, веретеновидных клеток расти пластом. Интенсивной миграции этих клеток не наблюдается, и вся их основная масса образует неплотный пласт, непосредственно окружающий кусочек. Пограничные со средою клетки этого пласта сильно укрупняются и распластаются. При культивировании они обнаруживают большую жизнеспособность и нередко делятся. При серебрении вся основная масса клеток окрашивается в желтый цвет, нейрофибрилярного аппарата обнаружить не удается, но общая волокнистость хорошо заметна. Среди этих клеток встречаются клетки крупных размеров с хорошо выраженными нейрофибриллами и длинными чернящимися отростками, которые теряются между мелкими клетками. На 5—6-й день культивирования часто можно наблюдать следующую картину: по поверхности такого пласта располагаются в большом количестве или совершенно округлившиеся, или с остатками отростков дифференцированные нервные клетки. Среди них очень часто встречаются перстеновидные формы, сохраняющие еще свои отростки.

Учитывая все изложенное выше, мы приходим к заключению, что здесь мелкие веретеновидные клетки являются глиальными элементами.

Зона миграции культуры состоит из клеточных элементов самой разнообразной формы и величины: дифференцированные нервные клетки на различных стадиях дегенерации, быстро ожиревающие микроглиальные элементы типа макрофагов и, наконец, отдельные мелкие веретеновидные клетки с развитыми отростками.

Таким образом нам удалось установить, что в зависимости от возраста культивируемой ткани характер клеточных элементов зоны роста и тип самого роста культуры сильно меняется. При эксплантации молодых эмбрионов зона миграции состоит почти исключительно из мелких веретеновидных или грушевидных клеток, которые в процессе культивирования развивают отростки, образующие часто густые сплетения. По своей природе эти клетки являются еще эмбриональными и в дальнейшем могут дать как макроглиальные элементы, так и настоящие нервные. При изучении культур без пересадок можно установить, что дифференцировка этих клеток идет преимущественно в направлении нейробластов.

В культурах же старых эмбрионов зона миграции состоит из изолированных клеток самой разнообразной формы и величины, среди которых встречаются в большом количестве дифференцированные нервные клетки на различных стадиях дегенерации. Мелкие же веретеновидные клетки обнаруживают большую жизнеспособность. Интенсивной миграции их не наблюдается, и основная их масса образует неплотный пласт. Обработка методами серебрения обнаруживает их глиальную природу.

Из изложенного выше вполне ясно, насколько важен учет возраста культивируемой ткани для определения природы клеточных элементов, и поскольку в большинстве исследований по культивированию нервной ткани вне организма не учитывался возраст эмбрионов, от которых брался мозг, их результаты являются несравнимыми. Этим и надо прежде всего объяснить наличие в литературе столь большого числа противоречивых данных.

Поступило
4 I 1940

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ O. M. Olivo, Arch. f. exper. Zellforsch., B. 4 (1927); B. 5 (1928). ² Otto Kapel, Arch. f. exper. Zellforsch., B. 5 (1928); B. 8 (1929). ³ P. Mihalik, Arch. f. exper. Zellforsch., B. 17 (1935). ⁴ T. Lazarenko, Arch. f. exper. Zellforsch., B. 11 (1931). ⁵ G. Levi, Ergebnisse d. Anat. und Entwicklung Geschichte, B. 31 (1934). ⁶ S. Mossa, Arch. f. exper. Zellforsch., B. 7 (1928). ⁷ K. Bauer, Arch. f. exper. Zellforsch., B. 22, H. 1 (1938); ZS. f. mikrosk. Anat. Forsch., B. 28 (1932). ⁸ Paul Serebriakow, ZS. f. Zellforsch. und mikrosk. Anat., B. 22 (1934).