

ЦИТОЛОГИЯ

А. Ф. ИВАНИЦКАЯ

**ВЛИЯНИЕ ГИПОТОНИИ СРЕДЫ НА РОСТ И ТЕЧЕНИЕ МИТОЗА
В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ ЭПИТЕЛИЯ ПОЧКИ ЭМБРИОНА ЧЕЛОВЕКА***(Представлено академиком Л. А. Орбели 5 XI 1946)*

Влияние осмотического давления среды мы изучали в работах по влиянию гипотонии в культурах тканей сердца человеческого эмбриона⁽¹⁾ и селезенки аксолотля. Результаты этих работ вполне согласуются с данными других авторов⁽²⁻⁷⁾. Влияние гипотонии проявлялось на изменении цитологических структур, затрагивая также течение митоза и вызывая расстройство и даже полную остановку его^(1, 5, 8-10). Все эти данные, а также указания Кнаке на то, что не все виды клеток одинаково реагируют на гипотонию в смысле повышения пролиферации, побудили нас продолжить работу по изучению влияния гипотонии среды на другую ткань того же объекта — почечный эпителий эмбриона человека. Мы пользовались человеческими эмбрионами в возрасте 2—2½ мес., из которых и готовили культуры. Средой для культур в контроле служила плазма кролика с добавлением к ней гомологичного эмбрионального экстракта. В экспериментальных сериях среда состояла из тех же компонентов, но разбавленных для создания гипотонии бидистиллированной водой. Были испытаны следующие разведения 2 : 1; 1,6 : 1; 1,4 : 1; 1,3 : 1; 1,2 : 1. Наблюдения за культурами и изучение их производились прижизненно, а также по фиксированному и окрашенному тотальным препаратом. Культуры фиксировались жидкостью Флемминга, иногда Левицкого и Ценкера — формолом, окрашивались гематоксилином по Карацци и по Фольгену.

Характер роста культур как контрольных, так и экспериментальных серий был неодинаков. В связи с характером роста клеточный состав был очень различен. При мембранном типе роста клетки были более однородными, однако и здесь можно наблюдать клетки более крупных размеров по сравнению с основной клеточной массой, на что указывал также Маркес⁽¹¹⁾, культивируя почку крысы.

Слабые степени гипотонии (2 : 1; 3 : 1; 6 : 1), как уже отмечалось, стимулируют пролиферацию; клетки при этом располагаются более свободно. В культурах с более сильно гипотонизированными средами (1,4 : 1; 1,3 : 1) наблюдается торможение роста, а при разведении 1,2 : 1 происходит полная остановка его. По мере увеличения гипотонии изменяется и характер роста; фибробласты становятся более редкими, а в культурах с гипотонизированной средой в отношении 1,4 : 1 и 1,3 : 1 развитие их вообще подавляется, и растут только эпителиальные клетки. Таким образом, сильно гипотонизированные среды при культивировании эмбриональной почки человека способствуют эпителиальному росту и тормозят, а часто и совсем подавляют, развитие фибробластов. Подобные же наблюдения сделаны Кнаке при куль-

тивировании фрагментов поджелудочной железы, но тогда как поджелудочная железа в культурах у Кнаке могла переносить разведение 3:1, в наших культурах эпителия почки максимальное разведение доходило до 1,3:1.

Понижение осмотического давления среды в культурах эпителия почки, так же как и при культивировании фибробластов сердца, вызывало набухание клеток и ядер. Мы измеряли два взаимно перпендикулярных диаметра ядер, перемножали эти величины и полученные произведения условно принимали за площади ядер. Средние размеры площадей контрольных культур оказались равными 28,4, при разведении среды до 1,6:1 они равнялись 47,2, при 1,4:1—44,6; при 1,3:1—34,8. Таким образом, наиболее сильные разведения не вызывали наибольшего набухания. Сравнивая кривые размеров ядер при разных степенях гипотонии в культурах эпителия почки с таковыми же для фибробластов сердца человеческого эмбриона⁽¹⁾, можно заметить сильное сходство между ними. В обоих случаях ядра достигали максимальных размеров не при наивысших разведениях, а при некотором более слабом разведении (рис. 1). При максимальных разведениях набухание становилось менее значительным и размеры площадей уменьшались, стремясь приблизиться к норме, но не доходя до нее. Кроме того, в клетках культур эпителия почки набухание происходило более медленно и постепенно, а процесс вторичного отбухания совершался в более узких пределах, чем в культурах эмбрионального сердца.

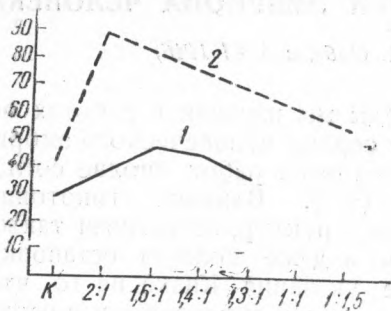


Рис. 1. Кривые размеров ядер из культур почки и сердца эмбриона человека: 1 — из культур эпителия почки; 2 — из культур фибробластов сердца человека; К — контроль

Это дает право предполагать, что клетки почечного эпителия человеческого эмбриона менее выносливы к гипотонии среды, чем клетки эмбрионального сердца.

Изучение препаратов обнаружило следующее очень интересное явление. В культурах, гипотонизированных 1,28:1, среди нормальных покоящихся ядер мы обнаружили ядра со свободными полостями внутри. Эти полости достигали разных размеров. Начинаясь с еле заметной величины, они увеличивались, дорастали до поверхности ядра и здесь открывались в протоплазму, опорожня, повидимому, свое содержимое. После этого в ядре оставалась продолговатая щель, суживающаяся до формы рубца (рис. 2). Подобные картины описаны Бергом⁽¹²⁾ и Мейером⁽¹³⁾ на секционном материале разных животных и человека. Берг принял это за особую секрецию ядра, отдающего накопленные продукты белкового распада в цитоплазму клетки и тем освобождающегося от вредных ядовитых веществ. Картины, замеченные нами, повидимому, можно отождествить с тем, что высказывал Берг. Сильная гипотония среды, вызывая процессы отбухания, затрагивает, повидимому, ядро, приводит к накоплению в нем каких-то веществ, не могущих задерживаться безгранично долго и изливающихся в цитоплазму.

Влияние гипотонии распространялось также и на клетку в митозе. По внешней форме хромосомы клеток культур эпителия почки очень похожи на те, которые описали Живаго и Андрес⁽¹⁷⁾. Но здесь, в связи с разнообразием клеточного состава в зоне роста, значительно труднее установить какие-либо закономерности в изменении хромосом в условиях разных степеней гипотонии.

Наряду с изменениями в размерах покоящихся ядер в культурах

эпителия почки происходят изменения в размерах и конфигурации хромосом. Эти изменения укладываются, повидимому, в кривую, установленную Живаго, Морозовым и Иваницкой в работе 1935 г. (4). Хромосомы профаз в слабо гипотонизированных средах располагались более свободно относительно друг друга, чем в норме, и несколько удлинялись при этом. Вместо нарастающего удлинения хромосом в профазе при переходе к метафазе начиналось их укорочение и сближение, заходящее за пределы контроля. К концу метафазы хромосомы достигали предельно коротких размеров, сближаясь и утолщаясь. Это происходило в культурах с предельными степенями гипотонии 1,2:1, и клеток с нормальными и переходными размерами хромосом наблюдать не удавалось. И, однако, здесь эти изменения никогда не заходили так далеко, как в культурах ткани из эмбрионального сердца человека: таких картин, как друзоподобные формы или фигуры, похожие на метафазы редукционного деления, в культурах эпителия почки никогда не наблюдалось. Наряду с описанными изменениями мы наблюдали различные аномалии митоза, из которых первое место занимали фигуры с отстающими единичными хромосомами или группами их в стадии мета- и телофазы и довольно редко элиминации.

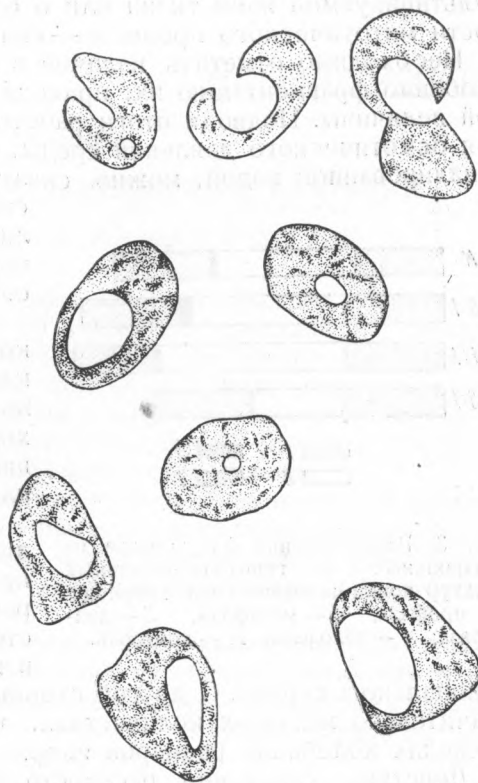


Рис. 2. Картины образования вакуолей и полостей в ядре из культур эпителия почки, гипотонизированных в отношении 1,28:1

Моллендорф (15), испытывая влияние веществ набухающего и отбухающего действия и наблюдая течение митотического процесса, заключил, что набухающе действующие субстанции мало влияют в профазе, замедляют течение метафазы, могут ускорить ана-телофазу и фазу реконструкции. Действие гипотонии среды относится к той же группе. Полученные данные показали, что слабые степени гипотонии увеличивают количество профаз, не изменяющееся и при всех последующих разведениях. Частота метафаз, увеличивающаяся по мере повышения степени гипотонии, достигала максимума при разведении 1,4:1, после чего, при дальнейшем разжижении, вновь резко сжималась, заходя за пределы контроля. Длительность телофазы при всех степенях гипотонии оставалась почти постоянной, ничем не отличаясь от контрольных культур. Очень малое число анафаз в контрольных культурах, говорящее о быстром прохождении этой фазы, увеличивалось незначительно в культурах со слабой степенью гипотонии 1,6:1 и вновь сокращалось при последующих разведениях. Увеличение количества метафаз говорит об удлинении периода времени, занятого этой фазой. Митоз в стадии метафазы как бы задерживается (рис. 3).

Изучение препаратов создало впечатление, что процент митозов в культурах почечного эпителия, по сравнению с таковыми в

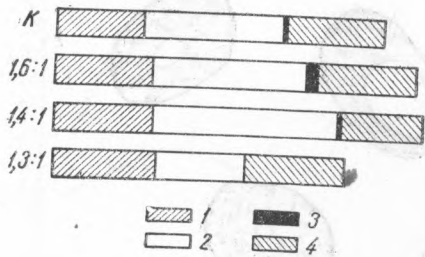
культурах ткани эмбрионального сердца человека, значительно снижен. Наблюдаются целые пласты эпителиальных мембран, в которых митозы совершенно отсутствуют. Это наблюдение идет вразрез с данными Эфрусси и Литвака⁽¹⁶⁾, которые в культурах эпителия почки кролика отмечают оживленную митотическую деятельность. Говорят ли наши данные о более слабой пролиферативной способности клеток культивируемой нами ткани или о более ярко выраженной синхронности митотического процесса — сказать трудно.

Необходимо отметить наличие в этих культурах слияния ядер и особенно фрагментацию их, приводящую к образованию ядер неравной величины. Подводя итоги работы по изучению влияния понижения осмотического давления среды, создаваемого разбавлением бидестилированной водой, можно сказать, что фактор этот оказывается сильно действующим, что проявляется на характере роста почечного эпителия, так же как и на состоянии клеток и их ядер.

Слабое понижение осмотического давления вызывало набухание клеток и более свободное их расположение. Вероятно, здесь происходит понижение вязкости и уменьшение дисперсности окружающей клетку среды.

Важным обстоятельством является реакция со стороны покоящегося ядра, проявляющаяся в образовании в них вакуолей и полостей, чего никогда не наблюдалось в ядрах клеток фибробластов эм-

Рис. 3. Распределение фаз митоза из контрольных и гипотонизированных культур почки человеческого эмбриона: 1 — профаза, 2 — метафаза, 3 — анафаза, 4 — телофаза, К — контроль.



брионального сердца. С другой стороны, они могли накапливать воду в значительно меньших количествах, что проявлялось в более узких пределах колебаний размеров ядер.

Действие гипотонии распространялось и на клетку в митозе, приводя к более редкому расположению хромосом и удлинению их в метафазе при слабой гипотонии. Более высокие степени гипотонии приводили к укорочению и сближению хромосом, а также к уменьшению размеров покоящихся ядер.

Сравнивая общее поведение клеток культур эпителия почки с фибробластами из сердца эмбриона в отношении их реакции на гипотонию среды, следует отметить, что пороги выносливости этих тканей различны. Предельные разведения среды бидестилированной водой для эпителия почки было 1,2:1, для фибробластов сердца 1:2, для селезенки аксолотля — 1:8.

Институт цитологии, гистологии и эмбриологии
Академии Наук СССР

Поступило
5 XI 1946

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- 1 П. Живаго, Б. Морозов и А. Иваницкая, *Арх. анат. гист. и эмбр.*, **14**, (1935).
- 2 A. Carrel and Burrows, *J. exp. Med.*, **13**, 562 (1911).
- 3 A. Ebeling, *J. Exp. Med.*, **20**, 130 (1914).
- 4 M. Lewis, *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, **34**, 223 (1923).
- 5 E. Willmer, *Brit. J. exp. Biol.*, **4**, 280 (1927).
- 6 O. Oliviero, *G. Gomirato, Boll. d. Sos. Ital. di Biol. Sperim.*, **7**, 482 (1932).
- 7 H. Grossfeld, *Arch. exp. Zellf.*, **16**, № 4 (1934).
- 8 А. Румянцева и В. Колпакова, *Арх. анат. гист. и эмбр.*, **8**, 1 (1928).
- 9 M. Lewis and W. Lewis, *Science*, **39**, 330 (1914).
- 10 E. Knaake, *Arch. exp. Zellf.*, **14**, H. 4, 601 (1933).
- 11 W. Berg, *Z. mikr. anat. Forsch.*, **16**, 213 (1929).
- 12 W. Berg, *Z. mikr. anat. Forsch.*, **28**, 65 (1932).
- 13 W. Berg, *Z. mikr. anat. Forsch.*, **33**, H. 1 (1934).
- 14 R. Meyer, *Z. Zellf. u. mikr. Anat.*, **25**, 614 (1936).
- 15 A. Faller, *Z. Zellf. u. mikr. Anat.*, **33**, H. 2 (1944).
- 16 W. Möllendorff, *Arch. exp. Zellf.*, **19**, 263 (1937).
- 17 W. Möllendorff, *Z. Zellf.*, **28**, H. 4 (1938).