

А. Ф. ИВАНИЦКАЯ

**ВЛИЯНИЕ ГИПОТОНИИ СРЕДЫ НА РОСТ И ТЕЧЕНИЕ МИТОЗА  
В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ СЕЛЕЗЕНКИ АКСОЛОТЛЯ**

(Представлено академиком Л. А. Орбели 5 XI 1946)

Осмотическое напряжение имеет существенное значение во многих жизненных проявлениях, отражаясь на характере обмена веществ, процессах роста и клеточного размножения. Мы остановились на изучении гипотонии среды. О влиянии гипотонии при культивировании тканей вне организма известно давно. Слабые степени гипотонии при недлительном культивировании оказывают стимулирующее действие, так как активируют подвижность клеточных элементов, их миграцию, рост и побуждают к интенсивной митотической деятельности (1-10).

Наряду со стимуляцией отмечается действие гипотонии среды также на разнообразные клеточные структуры. Гипотония среды в разных случаях вызывает вакуолизацию цитоплазмы, расстройство веретена, в результате чего хромосомы теряют свою ориентацию и митоз останавливается, изменение красимости базихроматина покоящегося ядра и хромосом, фрагментацию хромосом, их укорочение и сближение и многие другие явления. Разные степени гипотонии, вызывая процессы набухания и отбухания влияют на проницаемость, а так как в связи с состоянием набухания находятся поверхностные свойства клетки, то все это отражается на процессах ее жизнедеятельности. И, наконец, почти все указанные авторы отмечают, что клетки различных животных и даже клетки разных тканей одного и того же животного на различные степени гипотонии среды реагируют неодинаково.

Изучение влияния гипотонии проводилось не только методом тканевых культур, но и другими (работы Д. Н. Насонова и его сотрудников), и везде этот агент оказался одним из наиболее сильно действующих.

Объектом для своих наблюдений в данной работе мы избрали ткани аксолотля. Клетки этого животного при исследовании многих цитологических структур представляют, ввиду своей крупности, большие преимущества перед другими. Кроме того, в экспериментах подобного рода представляет большой интерес сравнение реактивности тканей обитателей водной и воздушной сред.

Мы культивировали селезенку 2—2½-месячных аксолотлей обычным методом тканевых культур по типу висячей капли. Средой для контрольных культур служила плазма кролика, разбавленная вдвое бидистиллированной водой для создания изотонии (11). В экспериментальных сериях приготовленная таким образом плазма разбавлялась бидистиллированной водой в различных отношениях — 1:1; 1:2; 1:3; 1:5; 1:8; 1:10; 1:12; 1:15; 1:20, чем и создавалась гипотония. Большое количество испытанных разведений позволило проследить поведение ткани при постепенном понижении осмотического давления среды.

Наблюдения за культурами проводились как прижизненно, так и на фиксированных покрашенных препаратах. В качестве фиксатора употреблялась жидкость Сан-Феличе и окрашивание по Фельгену, по Гимза и гемояуном. Все авторы, культивировавшие селезенку, и мы также, наблюдали, что в контрольных культурах уже в первые 24 часа после постановки культур наблюдается миграция клеточных элементов, образующая через 1—2 дня широкую зону вокруг всего кусочка. Зона эта по своему клеточному составу неоднородна. Одни



Рис. 1. Метафаза из культуры селезенки аксолотля, гипотонизированной в отношении 1:2

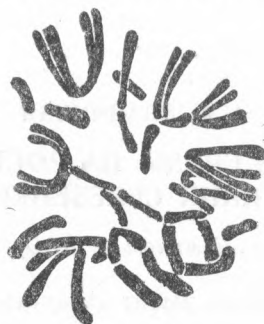


Рис. 2. Метафаза из контрольной культуры селезенки аксолотля

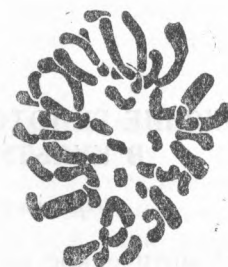


Рис. 3. Метафаза из культуры селезенки аксолотля, гипотонизированной в отношении 1:3

из этих клеток в дальнейшем погибают, другие — прodelьвают целый ряд превращений, почему в зоне миграции можно наблюдать очень разнообразные по зрелости клеточные элементы. Среди клеточных элементов в наших культурах преобладающими оказывались гемоцитобласты, наряду с которыми постоянно встречались и другие.

Под влиянием слабых степеней гипотонии 1:1; 1:2 мы наблюдали повышенную активность мигрирующих элементов и стимуляцию процессов пролиферации, что приводило к увеличению ареала роста культур по сравнению с контрольными. Все указанные процессы в культурах, гипотония среды которых была доведена до 1:3, протекали несколько понижено. Расположение клеток друг относительно друга было более редкое, чем в контрольных культурах или в культурах с гипотонизированной средой в отношении 1:1 и 1:2.

В культурах селезенки, помещенных в среду, гипотонизированную до 1:5 и 1:8, уже на 2-й—3-й день наблюдались явления дегенерации, но наряду с ними процессы миграции проходили также очень активно, а иногда здесь наблюдались многочисленные митозы, что указывало на полную жизнеспособность культур.

В культурах с гипотонизированной средой в отношении 1:10, 1:12 темп развития резко снижался, а при разведении плазмы до 1:15, 1:20 ни роста, ни миграции не происходило, тогда как дегенеративные явления развивались исключительно быстро. В чем же сущность дегенеративных процессов, которые с разной скоростью и количеством не одинаково захватывали культуры всех степеней гипотонии? Начинаясь обычно с периферической части зоны мигрирующих клеток, изменения эти распространялись в направлении эксплантата, захватывали его краевые участки и шли дальше в глубь самого высаженного тканевого фрагмента. Они сопровождалась появлением округлых, крупных, производящих впечатление пустых, как бы с гомогенизированной цитоплазмой клеток, наличием сморщенных, мятых, неправильной формы пикнотических ядер. Эти явления быстро нарастали и заканчивались полным распадом всего кусочка и громадными скоплениями детрита.

В культурах с гипотонизированной средой 1:10 весь этот процесс заканчивался в 2—3 дня.

Вычисление процента выживающих культур в средах с различными степенями гипотонии дало следующие результаты: контроль — 66%; 1:1 — 70%; 1:2 — 65%; 1:3 — 60%; 1:5 — 40%; 1:8 — 40%; 1:10 — 20%; 1:20 — 0%.

Необходимо коснуться явления разжижения среды, сопровождавшегося отставанием эксплантированных кусочков от покровного стекла, которые развивались в культурах с сильными степенями гипотонии среды. В контрольных культурах и в культурах со слабо гипотонизированными средами эти явления совершенно не наблюдались, а если и проходили, то как случайные, единичные факты.

Остановимся теперь на течении митоза, за которым мы вели специальные наблюдения. Следует сказать, что этот материал для кариологических целей оказался неблагоприятным. Дело в том, что мигрирующие клетки, неоднородные по своему составу и морфологии, крайне разнообразны и по характеру их митозов. Поэтому провести более или менее подробный кариологический анализ комплексов оказалось невозможным, и мы ограничились лишь поверхностными наблюдениями.

В культурах селезенки аксолотля, гипотонизированных в отношении 1:1; 1:2 (рис. 1), митотические фигуры производят впечатление более сжатых, чем в контроле (рис. 2), с более тесно сближенными между собой хромосомами. Хромосомы, повидному, несколько укорочены. Еще теснее они располагаются и еще сильнее укорачиваются в культурах с гипотонией 1:3; 1:4 (рис. 3).

При более высоких степенях гипотонии — 1:5; 1:8 — наблюдается удлинение хромосом и их более свободное расположение друг относительно друга (рис. 4). В разведениях еще более высоких, чем 1:8, митотических фигур обнаружить не удалось. Сравнивая поведение митоза в культурах селезенки аксолотля с тем, что наблюдали Живаго, Морозов и Иваницкая<sup>(9)</sup> в культурах сердца эмбриона человека, следует отметить, что при всех степенях гипотонии в культурах селезенки ни разу не удалось обнаружить такого расположения хромосом, которое напоминало бы спаривание гомологов в редукционном делении. Таких форм со сближенными и укороченными хромосомами как у эмбрионального сердца человека<sup>(9)</sup>, в культурах селезенки аксолотля мы не встречали. Повидному, изменения митоза в этих культурах не достигают степеней, характеризующих культуры эмбрионального сердца человека. Ввиду сложности клеточного состава эксплантата и зоны миграции мы не можем настаивать на полной точности описанных наблюдений в отношении митоза, но и не можем обойти их молчанием.

Подводя итоги работы по изучению влияния гипотонии среды при культивировании селезенки аксолотля и сопоставляя их с данными, полученными в культурах эмбрионального сердца человека, мы, повидному, вправе заключить, что разные ткани, различного видового происхождения реагируют на гипотонию среды неодинаково. Сердце человеческого эмбриона способно переносить гипотонию среды 1:1,5. Селезенка аксолотля, животного, связанного с водным образом жизни, способна при культивировании *in vitro* переносить значительно более высокие степени разведения, до 1:8. Повидному, клетки тканей ак-



Рис. 4. Метафаза из культуры селезенки аксолотля, гипотонизированной в отношении 1:8

солотля обладают более мощными защитными свойствами по отношению к воде в силу иных сорбционных свойств и свойств проницаемости, а также, конечно, и в силу иного обмена вещества. Это делает их более устойчивыми в отношении фактора гипотонии. Слабые степени гипотонии при недлительном культивировании оказывают стимулирующее действие на рост и развитие, митотическую деятельность и другие жизненные проявления, не нарушая их нормального течения. Сильные действуют отрицательно, вызывая нарастание дегенеративных явлений и гибель культуры.

Заканчивая на этом изложение полученных данных по влиянию гипотонии в культурах селезенки, мы считаем, что, ввиду большого значения этого фактора во многих процессах жизни, они нуждаются в дальнейшем развитии, как в смысле привлечения к изучению разных тканей одного и того же хозяина, так и в отношении обследования разных животных форм.

Институт цитологии, гистологии и эмбриологии  
Академии Наук СССР

Поступило  
5 XI 1946

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> A. Carrel and M. Burrous, J. exp. Med., **13**, 562 (1911). <sup>2</sup> A. Ebeling, J. exp. Med., **20**, 130 (1914). <sup>3</sup> M. Lewis, Johns Hopkins Hosp. Bull., **34**, 223 (1923). <sup>4</sup> E. Willmer, Brit. J. exp. Biol., **4**, 280 (1927). <sup>5</sup> A. Fischer, Gewebezüchtung, 1930. <sup>6</sup> O. Olivo u. G. Gomirato, Boll. della Soc. Ital. di Biol. Sperim., **7**, 482 (1932). <sup>7</sup> E. Khake, Arch. exp. Zellf., **14**, 601 (1933). <sup>8</sup> Verzelana, *ibid.*, **17**, (1935). <sup>9</sup> П. Живаго, Б. Морозов и А. Иваницкая, Арх. анат., гист., эмбр., **14**, № 2 (1935). <sup>10</sup> W. Möllendorf, Arch. exp. Zellf., **19**, 263 (1937). <sup>11</sup> N. Chlopin, *ibid.*, **1** (1925).