

В. И. КАРЕЛИНА

МАТЕРИАЛЫ О ВОЗРАСТНЫХ ОСОБЕННОСТЯХ КЛЕТОК

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 5 V 1948)

Несмотря на очевидную актуальность, вопросы возрастных отличий клеток тканей почти не разработаны. В 1934 г. Б. Токин⁽⁴⁾ формулировал проблему „онтогении клетки“. Этим термином подчеркивалось, что клетки, не потерявшие способности к делению, являясь неразрывной частью нормально интегрированной ткани, продельывают от деления до деления свой цикл развития. Согласно этой теории, так называемая стадия „покоящегося ядра“, или стадия „покоя клетки“, на самом деле является совокупностью процессов развития клетки, приводящих к митозу как итоговому этапу онтогении клетки. На разных этапах своей онтогении клетки неравноценны физиологически, морфологически и в отношении **формообразовательных возможностей**. В этом направлении проведен целый ряд исследований, однако преимущественно на одноклеточных организмах или на blastomeres дробящихся яиц.

В своих исследованиях мы остановились на эпителии роговицы лягушки. Благодаря работам Г. Стрелина^(2, 3), С. Шелкунова⁽⁵⁾, А. Гурвича и С. Залкинда⁽¹⁾ и других авторов, изучавших этот объект, мы могли в своих опытах делать относительно достоверные предположения о стадиях развития клеток в разных областях роговицы в норме и при тех или иных повреждениях.

В нижней зоне эпителия роговицы зимней лягушки митозы практически не встречаются, хотя, как показывают опыты, клетки не теряют способности к делению (Г. Стрелин). Под влиянием тканевых закономерностей онтогенез этих клеток растянут; они являются старыми клетками. При нанесении в этой области роговицы точечного ожога в прилегающем к ожогу эпителиальном пласте появляется „волна регенерационных митозов“. В результате этого клетки, окружающие ожог и покрывающие его после полной эпителизации, являются более молодыми, чем клетки, находящиеся на некотором расстоянии от него.

Следовательно, при нанесении повреждения на эпителий роговицы зимней лягушки мы имеем на одном и том же тотальном препарате роговицы клетки, находящиеся на разных стадиях развития. Мы имели основания ожидать, что при воздействии одних и тех же повреждающих агентов на эпителий роговицы клетки будут реагировать различно, в зависимости от того, на какой онтогенетической стадии они находятся.

В качестве повреждающего агента мы использовали витальный краситель нейтральная красная. Вопросы о реакциях, наблюдаемых при витальном окрашивании (интенсивность гранулообразования и др.),

школой Д. Н. Насонова хорошо разработаны и очень доказательно связаны с явлениями жизнедеятельности клетки вообще.

По исследованиям Г. Стрелина (², ³), эпителий роговицы лягушки не однороден на всем своем протяжении; свойства его резко изменяются от верхнего края роговицы к нижнему. Эпителий в верхней части роговицы более реактивен; митозы в основном сосредоточены в верхней зоне роговицы; эпителий верхней зоны наиболее чувствителен к рентгеновым лучам; при витальном окрашивании в клетках верхней зоны образуется больше „гранул красителя“, чем в нижней.

Мы изучали роговицу зимней лягушки в норме и при экспериментально вызванных ожогах.

Роговица окрашивалась на целых глазах или изолировалась от глаза и окрашивалась отдельно. Во всех опытах роговица окрашивалась нейтральной красной в концентрации 0,005% в течение 2 час. Опыты ставились при 14—15° С.

При окраске нормальной роговицы, в полном согласии с данными Г. Стрелина, мы наблюдали в цитоплазме клеток эпителия гранулообразование, причем интенсивность его падает в направлении от верхнего края роговицы к нижнему. При внимательном рассмотрении при больших увеличениях мы наблюдали, что в верхней зоне роговицы, наряду с отдельными клетками, парами клеток и целыми группами их с большим количеством крупных гранул встречаются и клетки с гранулами мелкими и в небольших количествах. Так как, однако, у большинства клеток верхней зоны роговицы наблюдается повышенное гранулообразование, то эта зона оказывается более ярко окрашенной. Мы нередко наблюдали и небольшие группы (по 4—8 клеток) с очень сильным гранулообразованием в средней или нижней зонах роговицы.

Мы наносили ожоги на эпителий роговицы зимней лягушки. Мы, конечно, не можем строго, по часам и суткам хода регенерации, судить, в каком проценте в разных зонах эпителиальные клетки находятся на тех или иных онтогенетических стадиях. Однако, изучая строго закономерное поведение эпителия в ходе регенерации, мы безошибочно могли сравнивать различные зоны, и, во всяком случае, решать вопрос — имеем ли мы дело в данном участке с большинством клеток, находящихся в интеркинетических стадиях или в стадиях деления.

В своих исследованиях мы подтвердили, что после ожога сохранившиеся живыми ближайшие к ране эпителиальные клетки не делятся, они надвигаются одним слоем на место травмы. Нельзя наблюдать митозы у этих клеток и в последующие дни, когда надвигающиеся со всех сторон клетки сомкнутся в „центре“ раны. Таким образом, мы вправе говорить, что эти клетки старые. В первые, во вторые, и даже в третьи сутки могут быть лишь единичные делящиеся клетки или клетки, недавно появившиеся в результате деления. На 7-й, 9-й и в последующие дни мы всегда наблюдаем массовые „регенерационные митозы“. Мы безошибочно можем говорить, что в определенных районах теперь имеются клетки в митотических стадиях развития и клетки молодые, недавно появившиеся в результате деления.

Таким образом, если мы воздействуем каким-либо повреждающим агентом на эпителий роговицы после ожога или другой локализованной травмы, мы вправе ожидать различия в реакции разных групп клеток.

Как уже говорилось, мы использовали витальную краску нейтральную красную.

Лягушки, принесенные с холода, перед опытом 3 дня находились при комнатной температуре. Легким касанием раскаленного конца препаровальной иглы наносился ожог всегда в нижней зоне правого

глаза. Роговица левого глаза служила контролем. Лягушки содержались без пищи в банках с водой. Всего под опытом находилось 50 лягушек.

Роговица окрашивалась сразу после ожога, через 5 час., сутки и через 3, 5, 7, 9 и 15 суток. При витальной окраске роговицы сразу после ожога мы наблюдали вокруг раны 2—3 ряда мертвых клеток с диффузно окрашенной протоплазмой и ядром. Дальше идут клетки, которые по интенсивности гранулообразования не отличаются от других клеток нижней зоны, а также клеток той же зоны контрольной роговицы.

Через 5 час. после нанесения ожога мы наблюдали аналогичную картину, но иногда около края раны или в лежащих вблизи рядах клеток встречаются единичные клетки или небольшие группы (3—6) с интенсивным гранулообразованием. Через сутки, как это отмечает и Г. Стрелин, клетки вытягиваются по направлению к ожогу, и вокруг раны эпителий образует валикоподобное „напластование“. От внутреннего края этого „валика“ к центру ожога 2—3 ряда клеток расположены в один слой. По интенсивности гранулообразования большинство этих клеток не отличается от нормально наблюдаемой в нижней зоне роговицы. Но число отдельных клеток или групп их с большим количеством гранул увеличивается по сравнению с таковыми, наблюдаемыми через 5 час. после ожога.

Через 3—5 суток место ожога, как правило, полностью эпителизируется. Клетки на местах ожога расположены в один слой. „Валикоподобное“ образование эпителия вокруг раны увеличивается. На месте бывшего ожога мы видели большое скопление разнообразной формы лейкоцитов, что также описано в работе (6). Если окрашивать роговицу спустя 3—5 суток после ожога, наблюдается резкое повышение интенсивности гранулообразования в эпителиальных клетках, окружающих ожог. Во все стороны от места ожога интенсивность гранулообразования постепенно снижается, причем вверх от ожога интенсивное гранулообразование занимает наибольшее пространство. В клетках, покрывающих место бывшего ожога, и на этой стадии регенерации „гранул красителя“ появляется немного. Через 7—9 суток, если ожог был небольшой, на месте раны эпителий становится многослойным. Если ожог занимал довольно обширную площадь, то через 7 суток эпителий на месте ожога остается еще однослойным. При витальной окраске в этих случаях мы имеем картину, аналогичную той, которая наблюдается и у 5-суточного препарата, только отмечается еще более интенсивное гранулообразование в эпителиальных клетках, окружающих ожог. В тех случаях, когда эпителий, покрывающий рану, становится многослойным, эпителий во всем описываемом районе ожога, включая и эпителий над бывшей раной, окрашивается одинаково: все клетки содержат очень большое количество „гранул красителя“. Весь район по интенсивности окрашивания резко отличается от других участков нижней зоны роговицы.

Через 11—15 суток на месте ожога уже всегда находится многослойный эпителий. Мы не обнаружили в этот период ничего принципиально нового. Можем лишь утверждать, что процесс гранулообразования в районе и на месте бывшего ожога на 11-е—15-е сутки несколько ослабевает по сравнению с 7—9-суточными препаратами. Микрофотоснимки дали нам уверенность во всех изложенных выводах (рис. 1).

В результате проведенных опытов мы пришли к выводу, что интенсивность гранулообразования при витальном окрашивании в эпителии роговицы зимней лягушки в нижней зоне в области точечного ожога повышается. Это повышение начинается спустя сутки после нанесения ожога и достигает своего максимума через 7—9 суток.

Так как мы считаем, что прилегающие к месту ожога клетки эпителиального пласта в результате регенерационных митозов являются более молодыми, то мы на основании своих данных можем говорить, что в молодых клетках эпителия появляется больше гранул красителя, чем в старых, при одних и тех же условиях окрашивания.

По данным Г. Стрелина, при ожоге в нижней зоне роговицы зимней лягушки митозы в основном концентрируются выше места ожога; следовательно, здесь мы должны иметь больше молодых

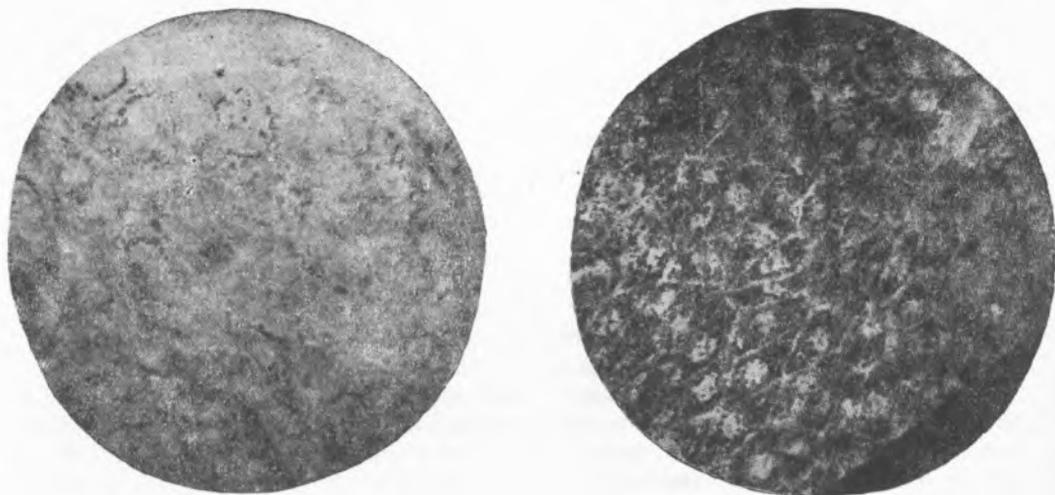


Рис. 1. Интенсивность гранулообразования при окраске нейтральной красной эпителия роговицы нижней зоны зимней лягушки. Слева — в норме (Цейсс, об. 90 \times , ок. 2 проекционный); справа — тот же район на 7-й день после ожога; видно интенсивное гранулообразование (Цейсс, об. 20 \times , ок. 15 \times)

клеток. В своих опытах при витальном окрашивании мы наблюдали вверх от ожога наиболее широкую зону эпителиального пласта с интенсивным гранулообразованием.

Таким образом, наше исследование дает некоторые материалы о возрастных отличиях клеток.

Однако, несмотря на убедительность изложенного материала, он должен рассматриваться как предварительный, хотя бы по той причине, что в нашей работе мы не имели возможности изучать подробно различные онтогенетические стадии клетки.

Лаборатория динамики развития организма
Института экспериментальной медицины
Академии Медицинских Наук
Ленинград

Поступило
5 V 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ А. Гурвич и С. Залкинд. Arch. mikroskop. Anat. u. Entw.-Mech., 100, 11 (1924). ² Г. Стрелин, Вестн. рентгенологии, 13, в 1—2 (1924). ³ Г. Стрелин, Арх. биол. наук, 37, в. 3 (1935). ⁴ Б. Токин, Биол. журн., 3, № 21 (1934). ⁵ С. Щелкунов, Арх. анат., гистол. и эмбр., 18, № 1 (1938).