

Г. И. РОСКИН и М. Е. СТРУВЕ

**К СРАВНИТЕЛЬНОЙ ЦИТОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ
ХАРАКТЕРИСТИКЕ ЯДЕР ЭМБРИОНОВ, ЯДЕР КЛЕТОК
ВЗРОСЛОГО ОРГАНИЗМА И КЛЕТОК ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ
ОПУХОЛЕЙ**

(Представлено академиком А. И. Опариним 1 X 1949)

В свое время Унна, в развитие идей П. Эрлиха, показал, что ядра различных тканей млекопитающих способны окрашиваться в синий цвет бесцветной лейкобазой метиленовой синьки. Но теория Унна, дававшая объяснение этому явлению, не выдержала экспериментальной проверки.

Рядом экспериментов можно показать, что ядра тканей млекопитающих теряют способность окрашиваться лейкобазой метиленовой синьки после обработки некоторыми реактивами. Не только фиксация сулемой, но и предварительное действие цианистого калия, нагревание до 50° в течение 30 мин., или продолжительное действие ультрафиолетовыми лучами уничтожает способность ядер окрашиваться лейкобазой метиленовой синьки. Также неспособны окрашиваться лейкобазой метиленовой синьки умершие клетки или предварительно фиксированные различными фиксаторами.

Все это показывает, что способность нефиксированных ядер клеток млекопитающих окрашиваться лейкобазой метиленовой синьки зависит от ферментного фактора, который можно условно назвать оксидо-редуктазой (1-5).

Совершенно иная картина получится, если мы применим лейкооснование метиленовой синьки для окраски различных простейших: разных видов инфузорий, жгутиковых, грегаринов и гемоспоридий. При этом можно убедиться, что для всех ядер различных видов простейших типична отрицательная реакция с этим реактивом. Иначе говоря, ядра простейших не способны окрашиваться лейкобазой метиленовой синьки.

Сравнивая ядра простейших с ядрами клеток млекопитающих, мы должны будем установить, что ядра клеток млекопитающих, в отличие от ядер простейших, обладают оксидо-редуктазой и в силу этого дают положительную реакцию с лейкобазой метиленовой синьки (методика реакции описана в работе (11)).

В этом общем правиле положительной реакции ядер клеток млекопитающих имеются некоторые исключения. Так например, в печеночных клетках белой мыши окрашивается цитоплазма, а ядро дает едва заметное голубое окрашивание. Так же ведут себя фибробласты и гистиоциты рыхлой соединительной ткани белой мыши, у которых и плазма и ядро не окрашиваются лейкобазой метиленовой синьки. Можно показать, что интенсивность реакции с лейкобазой метиленовой синьки зависит от физиологического состояния данной клетки. Так например, на различных этапах секреторной деятельности шелкоотделительной же-

лезы шелковичного червя можно видеть, как эта реакция то усиливается, то ослабевает. Еще более показательны наблюдения с асептическим воспалением, вызванным в соединительной ткани белой мыши. Под влиянием раздражения и фибробласты, и гистиоциты начинают давать положительную реакцию с лейкобазой метиленовой синьки, причем ядра клеток воспалительного инфильтрата дают очень интенсивное окрашивание. Эти примеры показывают, что активность оксидо-редуктазы в цитоплазме и ядрах различных клеток может меняться при разных физиологических или патологических состояниях.

Если ядра огромного большинства клеток взрослых организмов дают яркое окрашивание с лейкобазой метиленовой синьки, то совершенно по-иному ведут себя эмбриональные клетки. Нами были изучены эмбриональные клетки и ткани на различных этапах развития зародыша цыпленка и белой мыши. Все ядра эмбриональных тканей не окрашиваются в синий цвет лейкобазой метиленовой синьки. Любопытно отметить, что эта картина может резко меняться. Как только цыпленок вылупляется из яйца, ядра большинства его тканей начинают давать положительную реакцию с лейкобазой метиленовой синьки. То же самое происходит у новорожденной мыши.

Особый интерес представляет применение реакции на оксидо-редуктазу при изучении злокачественных тканей человека и животных. Нами были изучены несколько сот различных опухолей человека, а также опухоли лабораторных животных (аденокарцинома мыши, саркома мыши, карцинома кролика, гипернефрома морской свинки, саркома кур, асцитный рак мышей). Наблюдения показывают, что ядра всех злокачественных клеток теряют способность окрашиваться лейкобазой метиленовой синьки, т. е. ведут себя так же, как ядра эмбриональных клеток или ядра протистов.

Это обстоятельство — совпадение определенных свойств ядер злокачественных клеток и ядер протистов — прежде всего показывает нам, что отрицательная реакция с лейкобазой метиленовой синьки не связана с определенной морфологической спецификой ядер, так как ядра простейших имеют совершенно иное тонкое строение, чем ядра опухолевых клеток. Но что же, хотя бы приблизительно, может быть общего между клетками злокачественных опухолей и протозойными клетками?

В этом отношении могут быть высказаны два предположения, которые нуждаются в дальнейшем экспериментальном обосновании. Первое: протозойные клетки, подобно клеткам злокачественных опухолей, обладают способностью к непрерывному росту и размножению. Второе предположение базируется на том основании, что большинство изученных нами представителей протозоа может быть отнесено по характеру своего обмена к факультативным анаэробам. А как известно после работ Варбурга, клетки раковых опухолей способны переходить от кислородного дыхания к гликолизу. Эти два обстоятельства, как мы можем полагать, связаны прямо или косвенно с активностью оксидо-редуктаз в различных клетках.

Применение реакции на оксидо-редуктазу может быть полезным в качестве вспомогательной реакции при диагностике злокачественных опухолей человека и животных. Даже отдельные раковые клетки, находящиеся среди больших масс нормальных клеток, могут быть дифференцированно выделены с помощью реакции с лейкобазой метиленовой синьки. Следует добавить, что ядра так называемых доброкачественных опухолей окрашиваются положительно лейкобазой метиленовой синьки, т. е. ведут себя так же, как ядра нормальных клеток. Однако в некоторых опухолях, клинически и патологически диагностированных как доброкачественные, можно было отметить ослабление или даже исчезновение положительной реакции с лейкобазой метиленовой синьки. Даль-

нейшие клинические наблюдения смогут показать, насколько это явление может иметь прогностическое значение.

Подтверждение диагностической ценности реакции с лейкобазой метиленовой синьки мы находим в работах (6-8, 10).

Следует добавить, что злокачественные клетки, живущие в условиях культур тканей вне организма, т. е. в совершенно новых для них условиях, сохраняют свое свойство давать отрицательную реакцию с лейкобазой метиленовой синьки.

Нас не может удивлять, что злокачественные клетки содержат резко пониженное количество оксидо-редуказы, так как многие биохимические исследования показали, что содержание ферментов в раковых клетках может отличаться от такового у нормальных тканей. Между прочим, для раковых клеток было установлено пониженное содержание катепсина, каталазы, пероксидазы и повышенное — липазы, фосфатазы, аргиназы. Особенно снижено в злокачественных клетках содержание цитохрома, цитохромоксидазы и сукцинодегидразы (9).

Эти различия, несомненно, могут иметь значение для общего обмена веществ и баланса необластомных клеток. Все же для раковой клетки характерна ее бедность теми веществами, которые должны играть роль промежуточных звеньев в клеточном дыхании.

В заключение может быть поставлен вопрос: играет ли цитоплазма какую-либо роль в положительном или отрицательном эффекте реакции с лейкобазой метиленовой синьки? Этот вопрос имеет существенное значение для понимания механизма этой реакции, так как вполне законно сомнение в том, как и в какой степени картина, наблюдаемая на уже окрашенных препаратах, отражает действительное распределение в клетке оксидо-редуказ. Иначе говоря, не имеет ли места в процессе реакции с лейкобазой метиленовой синьки явление вторичного окрашивания метиленовой синькой, образовавшейся уже на препарате под действием тех или иных компонентов протоплазмы?

Для решения этого вопроса была поставлена серия опытов, в которых проводилась окраска лейкобазой метиленовой синьки не целых клеток, нормальных или злокачественных, а только их изолированных ядер. Для этой цели из нормальных и злокачественных тканей изолировались ядра по методу Гроссмана. Затем взвесь центрифугировалась и тщательно отмывалась от остатков плазмы. Такие отмыеые от протоплазмы ядра окрашивались лейкобазой метиленовой синьки. При сравнении препаратов ядер нормальных клеток с ядрами раковых клеток разница выступает чрезвычайно четко: нормальные изолированные ядра интенсивно окрашиваются в синий цвет, в то время как изолированные ядра злокачественных клеток остаются бесцветными или принимают едва заметный голубой тон.

Тем самым доказывается, что положительная или отрицательная реакция клеточных ядер с лейкобазой метиленовой синьки не зависит от свойств цитоплазмы и целиком определяется факторами, находящимися в самих ядрах.

Подводя итоги всему, что известно о реакции на оксидо-редуказу, о возможностях ее применения в нормальной и патологической гистологии, следует признать, что эта реакция в известной мере обогащает пока еще весьма ограниченный круг цитофизиологических и гистофизиологических методов. Эта реакция сама по себе и особенно в сочетании с другими гистофизиологическими и биохимическими методами, быть может, позволит нам продвинуться еще на одну ступень в познании характерных особенностей тех или иных клеток на различных стадиях их развития и особенно при их нормальных и патологических изменениях.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Г. И. Роскин, *Zs. f. Krebsf.*, 22 (1925). ² Г. И. Роскин, *Zs. f. Zellforsch.* 14 (1932), ³ Г. И. Роскин, *Уч. зап. Моск. ун-та*, 20 (1939). ⁴ Г. И. Роскин и В. Соловьева, *Архив патол. анатомии*, 4 (1938). ⁵ G. Chr. Hirsch u. W. Buchman, *Zs. f. Zellforsch.*, 11 (1930). ⁶ O. Solaro, *Arch. Italiano di Anatomia e Istologia Patol.*, 12 (1940). ⁷ N. Waterman, *Acta Cancerologica*, 1 (1934). ⁸ В. Войнов, *Клинич. медицина* (1940). ⁹ С. Мордашев, *Энзимология опухолей*, 1948. ¹⁰ F. Rauffer, *Die Färbemethoden der Krebszellen*, Dissertation, 1936. ¹¹ Г. И. Роскин и М. Е. Струве, *Бюлл. эксп. биол. и мед.*, 20, № 7 (1946).