

Э. И. АЙЗЕНБЕРГ-ТЕРЕНТЬЕВА

## ЦИТОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИМФОЦИТОВ НОРМАЛЬНОЙ КРОВИ

(Представлено академиком А. И. Опариным 26 X 1950)

В работе по культивированию лейкоцитов крови здорового человека нами было показано, что некоторая часть лимфоцитов оказывается способной к гранулопозу. Мы высказали предположение, что не все лимфоциты представляют собой однородную группу клеток. Будучи морфологически в значительной степени идентичными, лимфоциты, повидимому, представляют собой физиологически смешанную группу клеток с разными возможностями развития.

Нам казалось интересным проверить наше предположение о физиологической разнородности лимфоцитов, одинаковых по своим основным морфологическим признакам <sup>(1)</sup>.

Широко известны работы Д. Н. Насонова и его сотрудников по витальным наблюдениям клеток и появлению в последних паранекротических изменений при действии на клетки различных повреждающих внешних воздействий. Состояние паранекроза школой Насонова определяется, в частности, по усилению сродства клеток к витальному красителю, по уменьшению степени дисперсности коллоидов ядра и цитоплазмы и по увеличению вязкости, наблюдаемым в ультрамикроскопе.

По быстроте наступления паранекроза в клетке, а также по способности последней к восстановлению нормальных свойств после исключения повреждающего воздействия можно судить о физиологическом состоянии клетки, о ее жизнедеятельности.

В нашу задачу входило с помощью витальных наблюдений изучить свойства лимфоцита в физиологических условиях и, при повреждении, выяснить, являются ли лимфоциты периферической крови группой одинаковых по своим физиологическим свойствам клеток.

В другой работе, изучая цитофизиологические свойства кроветворных элементов костного мозга, мы отметили, что более молодые, недифференцированные элементы кроветворного ряда оказываются и более чувствительными к внешнему воздействию <sup>(3)</sup>. Если высказанное предположение, что лимфоциты представляют собой разнородную по своим физиологическим свойствам группу клеток, справедливо, то это проявлялось бы и по реакции этих элементов на внешнее воздействие.

Лимфоциты исследовались в лейкоцитарной пленке крови. В качестве повреждающих агентов использовалась гипотония (разбавленный рингеровский раствор) и уксусная кислота. Исследовалась кровь человека, собаки, кошки и кролика. Наиболее удобной для наблюдения оказывается лейкоцитарная пленка крови кролика, содержащей большое количество лимфоцитов.

Лейкоцитарная пленка после ее получения отмывалась в рингеровском растворе от эритроцитов и нарезалась на кусочки, которые помещались в опытные растворы, приготовленные на растворе Рингера, и в контрольный рингеровский раствор. В качестве витального красителя употреблялась нейтральная красная в концентрации 0,02 %.

Окрашивание (30—40 мин.) производилось при т-ре 37° с последующей отмывкой (20—30 мин.) в соответствующем растворе без красителя при этой же температуре.

Микроскопические препараты готовились путем легкого надавливания кусочка лейкоцитарной пленки на предметное стекло. Сверху накладывалось покровное стекло. Для предохранения от высыхания края покровного стекла замазывались вазелином. Для исследования лимфоцитов в темном поле употреблялись специально обработанные предметные и покровные стекла. При изучении препаратов производился подсчет от 100 до 200 лимфоцитов с обозначением характера распределения витального красителя в клетке в опытных и контрольных растворах.

В рингеровском растворе лимфоциты в массе представляются бесструктурными. Нечетко отмечается граница ядра. В темном поле ядра оптически пусты. Слегка светится оболочка ядра и цитоплазмы. В некоторых клетках удается отметить свечение нескольких точек или нежных папочек в перинуклеарной области цитоплазмы. Повидимому, это митохондрии, описанные и другими авторами. Иногда граница ядра и клетки представляется слегка зубчатой.

После пребывания лейкоцитарной пленки в рингеровском растворе с добавлением нейтральной красной, отмечается некоторое разнообразие в отношении лимфоцитов к витальному красителю.

Способность лимфоцитов к гранулоотложению в различных клетках выражена в разной степени. В некоторых клетках отмечается появление единичных гранул красителя, в других — от 3 до 10 гранул и, наконец, в небольшом количестве лимфоцитов наблюдается большое скопление гранул красителя.

Постоянно отмечается наличие некоторого количества лимфоцитов, которые при отсутствии гранулообразования в клетке не окрашиваются диффузно. И, наконец, последняя группа лимфоцитов в физиологических условиях представляется слегка поврежденной. Ядра этих клеток более или менее сильно окрашивались.

В табл. 1 мы приводим средние цифровые данные, полученные при подсчете лимфоцитов в лейкоцитарной пленке кролика.

Таблица 1

Характер распределения нейтралрота в лимфоцитах

Вещество	Отсут-ствие окраски в %	Гранулярный тип окраски в %			Диффузный тип окраски в %		
		+	++	+++	○	○○	○○○
Рингер . . . . .	12	33	40	9	6	—	—
Разбавленный рингер (гипотония) . .	24	9	—	—	41	18	8
Уксусная кислота . . . . .	6	2	—	—	47	34	11

Примечание: + клетки с единичными гранулами красителя, ++ клетки с количеством гранул от 3 до 10, +++ лимфоциты с количеством гранул красителя свыше 10. ○ — слабо окрашенные ядра лимфоцитов, ○○ — средние окрашенные, ○○○ — интенсивно окрашенные ядра лимфоцитов.

При помещении кусочков лейкоцитарной пленки в опытные растворы (разбавленный раствор Рингера, уксусная кислота) с добавлением к ним нейтральной красной, отношение лимфоцитов к витальному красителю существенно меняется.

При слабой гипотонии (раствор Рингера, разбавленный в два раза) значительное количество лимфоцитов оказывается неспособными гранулировать краситель. Ядра окрашиваются диффузно, в отдельных клетках очень интенсивно, а в большинстве клеток умеренно. Часть лимфоцитов остается в этом растворе без изменений и, наконец, небольшое количество лимфоцитов сохраняет способность к гранулоотложению красителя.

В опытах на обратимость, т. е. при перенесении лейкоцитарной пленки из опытного раствора в рингеровский и последующем изучении микроскопических препаратов через час оказалось, что подавляющее большинство лимфоцитов раскрашивается и вновь приобретает способность к гранулообразованию красителя.

При действии уксусной кислоты в концентрации 0,05% повреждающее действие оказывается сильнее и характер распределения красителя в клетках, по сравнению с контролем, меняется сильнее.

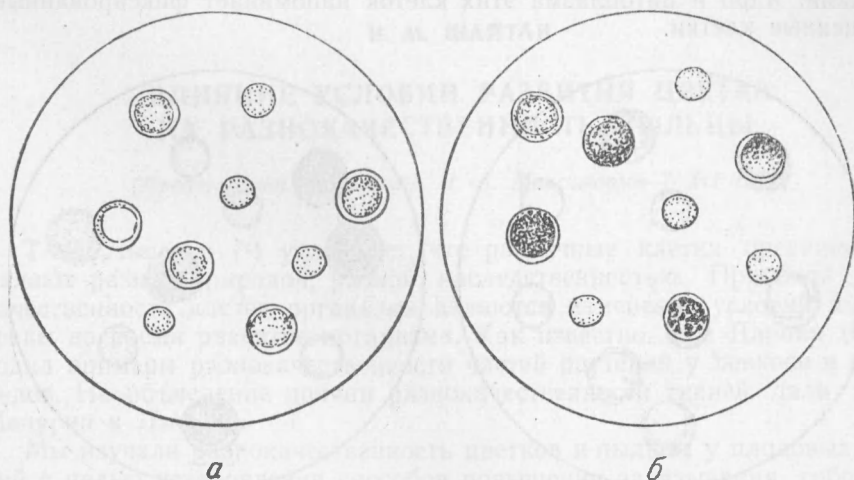


Рис. 1. Ультрамикроскопия. *а* — контроль. Лимфоциты периферической крови кролика в рингеровском растворе. *б* — опыт. То же в 0,05% уксусной кислоте

Как видно из табл. 1, лишь незначительная часть лимфоцитов в этом растворе остается без изменений, и только единичные клетки сохраняют способность к слабому гранулоотложению красителя. Опыты с обратимостью также указывают на более глубокое действие кислоты. Через час после прекращения воздействия довольно значительная часть лимфоцитов остается слегка окрашенной. Способность к гранулоотложению красителя в этих клетках не восстанавливается.

При изучении лимфоцитов в темном поле после пребывания лейкоцитарной пленки в 0,05% растворе уксусной кислоты в течение 40—60 мин. удается наблюдать все переходы в изменении коллоидного состояния ядра и цитоплазмы клеток: от гомогенного, оптически пустого ядра в единичных клетках, до блестящего резко структурированного ядра, светящегося молочно-белым светом.

Как видно из изложенного, физиологическая неоднородность лимфоцитов ясно выявляется уже в контрольных опытах, где отмечается разное отношение лимфоцитов к витальному красителю в физиологических условиях.

Подавляющее большинство лимфоцитов периферической крови находится, очевидно, в состоянии нормальной жизнедеятельности. Витальный краситель откладывается в этих клетках в виде гранул, причем число этих гранул может быть непостоянно. Цитоплазма и ядро таких лимфоцитов в растворе нейтральной красной остаются бесцветными. Некоторая часть лимфоцитов (в среднем 9%) накапливает краситель в очень большом количестве гранул. Нам кажется вероятным, что эти клетки находятся в возбужденном состоянии (их жизнедеятельность оказывается повышенной), при котором, как показали работы Д. Н. Насонова и В. Я. Александрова<sup>(2)</sup>, гранулообразование красителя стимулируется. Часть лимфоцитов не реагирует на присутствие нейтральной красной в рингеровском растворе (в среднем 12%) и остается без изменений. И наконец, около 6% лимфоцитов оказываются поврежденными спонтанно.

При действии повреждающих агентов на лимфоциты крови, отмечают, как и следовало ожидать, существенные изменения в характере распределения красителя в клетках. Однако, необходимо подчеркнуть, что не все лимфоциты одинаково реагируют на воздействие.

Подавление функции гранулообразования и появление диффузной окраски ядра мы отмечали при действии гипотонии и уксусной кислоты в подавляющем большинстве лимфоцитов. В обоих случаях около 10% из общего числа лимфоцитов оказываются особенно интенсивно окрашенными. Ядро и цитоплазма этих клеток напоминает фиксированные и окрашенные клетки.

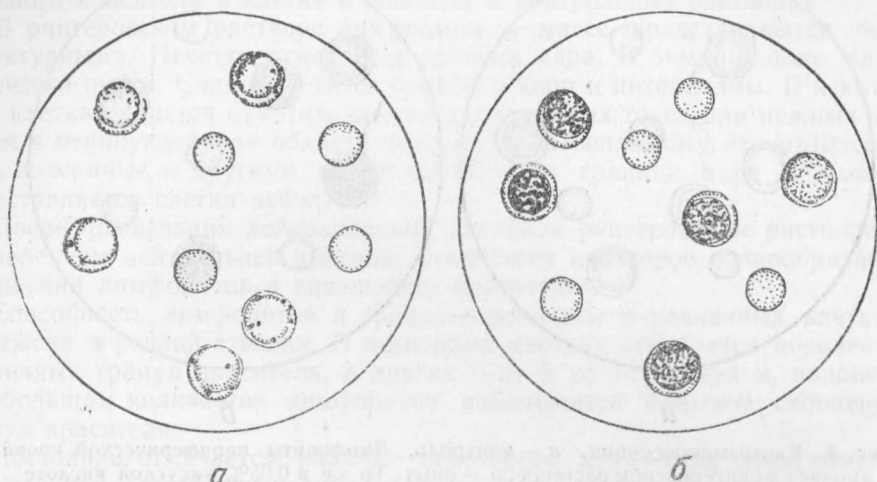


Рис. 2. Витальная окраска. *a* — контроль. Лимфоциты периферической крови кролика в рингеровском растворе + 0,02% нейтралрота. *б* — опыт. То же в 0,03% уксусной кислоте + 0,02% нейтралрота

Можно предположить, что эти наиболее поврежденные клетки соответствуют группе лимфоцитов, которая в физиологических условиях обладала повышенной возбудимостью и способностью к усиленному гранулоотложению красителя. Эти клетки, как видно в наших опытах, являются и более легко ранимыми.

Понятно, что если лимфоциты представляют собой сборную группу клеток в отношении их физиологических свойств, то они должны быть разнородными и по своим потенциальным возможностям. Часть лимфоцитов оказывается неспособной к развитию. Эти клетки находятся в состоянии как бы спонтанного умирания — в состоянии завершения жизненного цикла. Другая, самая большая часть лимфоцитов, представляет собой жизнедеятельную группу клеток, но уже в достаточной степени специализированную. Возможно ли, изменив условия существования этих клеток, изменить уже определившиеся свойства этих клеток, сказать трудно. Для ответа на этот вопрос нужны специальные исследования. Наконец, некоторое количество лимфоцитов представляет совсем молодые клетки с повышенной физиологической функцией гранулоотложения витального красителя. Эти клетки легко ранимы, как вообще молодые элементы кроветворного ряда и обладают, очевидно, большими возможностями развития в разных направлениях.

Институт гематологии и переливания крови  
Академии медицинских наук СССР

Поступило  
26 X 1950

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> Т. Д. Лысенко, Агробиология, 1948. <sup>2</sup> Д. Н. Насонов и В. Я. Александров, Реакция живого вещества на внешнее воздействие, 1940. <sup>3</sup> Э. И. Айзенберг-Терентьева, Бюлл. экпер. биологии и мед., № 9, 213 (1950).