

ВСЕСОЮЗНОЕ ОБЩЕСТВО
ПО РАСПРОСТРАНЕНИЮ ПОЛИТИЧЕСКИХ И НАУЧНЫХ ЗНАНИЙ

ДОКТОР БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК
Г. К. ХРУЩОВ

КУЛЬТУРА ЖИВОТНОЙ ТКАНИ ВНЕ ОРГАНИЗМА

Стенограмма публичной лекции,
прочитанной в Центральной лектории
Общества в Москве

ИЗДАТЕЛЬСТВО „ПРАВДА“

МОСКВА

1948 г.

Всесоюзное общество по распространению политических и научных знаний

Доктор биологических наук Г. К. Хрущов.

Культура животной ткани вне организма

Стенограмма публичной лекции,
прочитанной в Центральном лектории
Общества в Москве

Издательство «Правда»

Москва 1948г.

Многообразные функции животного организма осуществляются в результате сложного взаимодействия его частей — клеток, тканей и органов. Эти части теснейшим образом связаны друг с другом, зависимы друг от друга, объединены общими регулирующими взаимодействиями целого организма и вместе с тем обладают относительной автономностью, самостоятельностью функций и развития.

Современная биология и медицина сделали крупнейшие успехи в изучении как свойств самих составных частей многоклеточных организмов, так и закономерностей их взаимодействия в живом организме. Эти успехи привели нас к достаточно полным и точным знаниям о морфологических и функциональных особенностях клеток и тканей, их соотносительной роли в нормальных и патологических процессах. В ряде случаев — и они становятся всё более и более многочисленными — мы уже используем наши знания в этой области для произвольного вмешательства в самые разнообразные проявления жизнедеятельности животного организма.

В познании тонких структур многоклеточного организма и в определении функционального их значения важнейшую роль сыграли новые, совершенные методы микроскопического исследования, среди которых метод, получивший название «**культуры тканей**», занимает одно из первых мест. С помощью этого метода удалось не только предохранять от гибели изолированные от целого организма кусочки тканей и отдельные комплексы клеток, но и добиться сохранения на неопределённо долгие сроки их жизнепроявления. То, что в живом, функционирующем состоянии было скрыто в глубине тела животных и не поддавалось непосредственному наблюдению, оказалось в результате разработки метода культуры тканей вполне доступным глазу исследователя, вооружённого микроскопом.

Русским исследователям принадлежит большая доля заслуги в разработке и развитии этого метода, завоевавшего ныне почётное место в самых различных отраслях биологии и медицины.

Уже в самом начале возникновения основных приёмов метода, в 1912 г. в Томске Авроров и Тимофеевский проводят свои замечательные исследования над белыми элементами крови человека — лейкоцитами. Пользуясь методом культуры тканей, они специально изучают лейкоциты, взятые у больных белокровием. В 1914 г. выходит в свет большая, ставшая классической, работа петербургского гистолога **Максимова**, посвящённая исследованию соединительной ткани с помощью тканевых культур. Вскоре после этого Кронтовский, применяя метод тканевых культур, проводит в своей лаборатории в Киеве успешную серию ценных исследований по физиологии тканевых клеток. Вокруг Н. Г. Хлопина в Ленинграде возникает большая школа гистологов, широко использующая и совершенствующая метод культуры тканей для разрешения важнейших вопросов гистологии, т.е. учения о тканях. В Москве А. В. Румянцев становится основоположником целой школы гистологов и цитологов, с большим успехом применяющих и разрабатывающих метод тканевых культур.

А. Тимофеевскому и его сотрудникам принадлежит крупнейшая заслуга в изучении тканей злокачественных опухолей с широким применением метода культуры тканей.

Советским учёным принадлежат также прекрасные руководства-сводки по культурам тканей: в 1917 г. выходит в свет книга Кронтовского и Полева «Метод тканевых культур», в 1932 г. — книга А. В. Румянцева «Культура тканей вне организма и её значение в биологии», в 1940 г. — книга Н. Г. Хлопина «Культура тканей», в 1947 г. — сводка А. Д. Тимофеевского «Эксплантация опухолей человека».

Исследования русских и советских учёных, проводимые на культурах тканей, с самого начала отличались от огромного большинства аналогичных работ зарубежных исследователей своей идейной целеустремлённостью. Самый факт возможности сохранения жизнеспособными изъятых из организма кусочков органов и тканей казался поразительным. Вокруг метода тканевых культур создалась обстановка некоторой сенсационности. Именно этой сенсационностью отмечены многие работы иностранных учёных, посвящавших излишне много внимания самой культуре ткани как таковой, как некоему поразительному явлению. Русские же учёные сразу увидели в культурах тканей серьёзный и многообещающий метод и подчинили его разрешению важнейших, актуальных проблем биологии и медицины.

С помощью метода культуры тканей за последние тридцать лет получено так много новых данных, относящихся к самым разнообразным

отраслям биологии и медицины, что даже для краткого систематического обзора их потребовалась бы не одна сотня страниц. В одной лекции нет никакой возможности охватить даже в кратких чертах всё обилие накопившегося материала. Поэтому мы ограничимся лишь общей характеристикой метода тканевых культур и кратко рассмотрим наиболее общие и важные результаты, достигнутые благодаря применению этого метода в области изучения клеток и тканей животных и человека.

Прежде всего постараемся дать определение тому, что мы называем культурой ткани.

Культурой ткани, или тканевой культурой (культурой *in vitro*, эксплантатом), обобщая ряд частных, специфических свойств, мы называем кусочек ткани или органа, изъятый из организма и помещённый в среду определённого состава. При определённых условиях температуры, влажности и освещения в выделенном из организма кусочке осуществляются все необходимые для жизни функции, и происходит увеличение массы живого вещества, т. е. размножение клеток и разрастание ткани. Именно разрастание ткани — «рост» культуры — и является, как правило, основным критерием в определении тканевой культуры в отличие от простого сохранения тканей живыми в тех или иных условиях после изъятия их из организма.

Возможность получения тканевой культуры основывается на том, что отделённые от организма небольшие частички органов и тканей не сразу после отделения теряют свойственные им жизненные проявления. Нам известно, что ряд органов и тканей даже через много часов после смерти всего организма не теряют способности проявить свои функции и осуществляют их после перенесения в те или иные благоприятные условия. Так, мышечные волокна, выделенные из трупа и предохраняемые от высыхания, способны отвечать на раздражение сокращением, белые элементы крови — лейкоциты — способны к характерному движению и заглатыванию частиц — фагоцитозу, нервные волокна могут проводить возбуждение, и т. д. Нам известно также, что такая специфическая функция, как функция мерцательного эпителия — ткани, выстилающей дыхательные пути, — заключающаяся в закономерном движении тончайших «ресничек» на поверхности клеток, сохраняется в трупе длительное время после смерти организма.

Способность к достаточно длительному «переживанию» целых органов (сердце, ухо, целые головы, конечности и т. д.), изъятых из организма, впервые очень широко исследовали русские учёные (Кравков, Кулябко) и использовали эту способность в важнейших физиологических экспериментах.

Мне приходилось исследовать ткани мягких мозговых оболочек от трупа через трое суток после смерти. Уже через 18 — 20 часов после постановки культур из этих тканей можно было наблюдать активное движение и размножение клеток, а через 2—3 суток происходило отчётливо заметное разрастание ткани. Эту способность «переживания» изъятых из живого или мёртвого организма кусочков органов и тканей можно значительно продлевать, помещая их в так называемые физиологические растворы, т. е. среды определённого солевого состава, близкого к тому, который имеется в крови и тканевых жидкостях. В этих растворах кусочки тканей предохраняются от быстрой гибели, и поэтому эти среды названы защитными — «протективными». Их широко используют при подготовке тканей для культивирования. Однако эти среды не обеспечивают ни достаточно длительной жизни тканей, ни новообразования живого вещества. В них нет необходимых для этого веществ, обычно называемых «питательными».

Из сказанного вытекает, что для получения тканевой культуры необходимо изъятые из организма тканевые кусочки, используя их способность к «переживанию», поместить в такие условия, которые наиболее полно обеспечивают осуществление жизненных функций тканей в течение длительного срока. Одни из этих необходимых условий оказываются общими для самых различных тканей. Другие являются специфичными только для отдельных тканей в связи с теми биологическими особенностями, которые те или иные ткани приобрели в эволюции животного мира.

В составе тела высокоорганизованных многоклеточных животных мы различаем четыре тканевых системы: пограничные ткани, или эпителии, ткани внутренней среды, или соединительные ткани, мышечные ткани и ткани нервной системы. Каждая из этих систем характеризуется своими отличительными — «типовыми» — морфологическими и функциональными признаками, в той или иной мере выраженными в каждом из входящих в их состав специфических видов тканей.

Так, для всех видов эпителиев, или пограничных тканей, характерны тесная связь клеток друг с другом и отсутствие каких-либо специальных межклеточных структур. Образуя однослойные или многослойные пласты, пограничные ткани входят в состав внешних покровов, выстилают как открытые, так и замкнутые полости тела и участвуют в строении различных желез и выделительных органов.

Для тканей внутренней среды характерны противоположные структурные признаки: рыхлое расположение клеток, присутствие межклеточного вещества и межклеточных структур, имеющих в этих тканях не меньшее значение, чем клетки.

Значение различных видов тканей внутренней среды очень различно. Одни из них, как, например, кровь, лимфа, рыхлая соединительная ткань, являются тканями, в которых совершаются сложные процессы внутреннего, так называемого промежуточного, обмена организма. Другие составляют такие механические, опорные структуры, как сухожилия, хрящи, кости.

Мышечные ткани, функции которых ограничены реактивными сокращениями, обеспечивающими двигательные функции организма и его отдельных органов, строятся из особых элементов — мышечных волокон. В мышцах произвольного движения — поперечнополосатых — волокна представляют собой длинные тяжи протоплазмы, содержащие множество ядер. В мышцах непроизвольного, автоматического движения (например, в стенках кишечника, желудка, мочевого пузыря, артерий и вен и т. д.) — гладких мышцах — волокна представляют собой вытянутые веретенообразные одноядерные клетки, по своему происхождению и ряду свойств родственные клеткам соединительной ткани.

Под названием «нервная ткань» понимают совокупность специальных элементов, составляющих органы нервной системы. Среди этих элементов следует различать собственно нервные элементы — нейроны — и так называемые элементы нейроглии.

Нейроны представляют собой большей частью многоотростчатые клетки, вступающие с помощью своих отростков в многообразные контактные связи друг с другом и с различными элементами других тканей. Именно в этих элементах и возникают под влиянием различных раздражителей специфические нервные импульсы, передающиеся по отросткам клеток в ряде случаев на очень значительные расстояния.

Элементы нейроглии, представленные клетками различной формы и величины, образующими различные клеточные связи, играют в нервной системе подсобную роль, обеспечивая структурные и физиологические условия для нормального функционирования нейронов.

Мышечные и нервные ткани, как правило, пронизаны соединительной тканью, по которой распределяются кровеносные и лимфатические сосуды. Этим обеспечивается циркуляция в этих тканях крови и лимфы и нормальное функционирование мышц и нервной системы.

Между системами пограничных тканей и тканями внутренней среды, с одной стороны, и системами мышечной и нервной ткани — с другой, имеется существенное биологическое различие. К первым относятся ткани, в составе которых всегда имеются молодые, недифференцированные клетки, способные к размножению и развитию, — так называемые «камбиальные» клетки. Чем моложе животное, тем больше в составе его пограничных и соединительных тканей камбиальных клеток. За счёт

размножения и развития этих клеток даже у взрослого и стареющего организма происходит постоянная смена клеток эпителия и соединительной ткани. В результате размножения камбиальных клеток на смену отработавшим и отмирающим клеткам приходят новые, специализирующиеся.

В связи с постоянным наличием камбиальных клеток пограничные ткани и ткани внутренней среды способны легко восстанавливать свою целостность после повреждений — регенерировать. Эта способность играет решающую роль в процессах заживления ран.

Поперечнополосатые мышечные ткани у высших животных во взрослом состоянии лишены камбиальных элементов. Новообразование и рост мышечных волокон имеют место лишь у зародышей и молодых, растущих животных. В связи с этим и регенерация поперечнополосатой мускулатуры после повреждений у взрослых отмечалась лишь в редких случаях.

Что касается нервной ткани, то способность к размножению в ней у взрослых животных сохраняют лишь клетки нейроглии. Собственно нервные клетки — нейроны — очень рано, ещё в зародышевой жизни, приобретают конечную специализацию и навсегда теряют способность к размножению. Однако у молодых животных в процессе их роста и развития отростки нейронов сохраняют способность к росту, а у взрослых — к восстановлению.

Почти все виды тканей перечисленных четырёх тканевых систем поддаются культивированию — одни более легко, другие — труднее, требуя применения специальных методик. Из самого определения тканевой культуры, данного выше, ясно, что наибольших положительных результатов удаётся добиться при культивировании таких тканей взрослого животного и человека, в составе которых имеются неспециализированные — камбиальные — или малоспециализированные клетки. И, естественно, наиболее легко поддаются культивированию ткани зародышей и самых молодых животных.

* * *

Техника приготовления тканевых культур заключается в следующем. (Мы остановимся только на наиболее распространённых общепринятых приёмах, оставляя в стороне многочисленные модификации, применяемые для специальных исследований.)

При постановке культур требуется сохранение полной стерильности. Никогда не следует забывать, что изъятые из тела животного кусочки органов и тканей сразу же попадают в условия, в которых перестают действовать защитные механизмы организма, и легко становятся

добычей различных микробов. Поэтому самая операция изъятия кусочков, как и вся дальнейшая работа с ними, должна быть обставлена так, чтобы не занести никакой инфекции. Руки исследователя, инструменты, посуда, все материалы и растворы тщательно стерилизуются.

Изъятые из организма кусочки тканей помещают в физиологические растворы и острыми тонкими ножницами или ножичком разрезают на мелкие частицы, как правило, не превышающие одного миллиметра.

Затем частички тканей должны быть помещены в полноценные «питательные» среды. Наиболее подходящей и наиболее употребляемой средой является смесь плазмы крови (лучше — того же вида животного, от которого берутся кусочки тканей) и так называемого эмбрионального экстракта, т. е. выжимки из тканей эмбрионов (зародышей).

Кровяную плазму получают из отцентрифугированной крови, предварительно собранной в парафинированную пробирку и охлаждённой на льду во избежание свёртывания. Кроме охлаждения применяют также и добавление к крови небольших количеств различных веществ, задерживающих свёртывание.

Эмбриональный экстракт, или сок, можно готовить из эмбрионов любого животного, так как многочисленные опыты показали, что он для большинства нормальных тканей как питательная, стимулирующая тканевую рост среда не обладает видовой специфичностью. Наиболее часто для приготовления эмбрионального экстракта используют куриные зародыши из инкубируемых яиц.

Кроме эмбрионального экстракта, используются также и экстракты из различных органов взрослых животных, например, из мышц, селезёнки, костного мозга.

Наиболее распространены два метода постановки тканевых культур: метод «висячей капли» и метод культивирования в флаконах — так называемых чашках Карреля.

Метод «висячей капли» состоит в следующем. На тонкое, так называемое покровное стекло или слюдинку наносят каплю плазмы, в неё из физиологического раствора переносят кусочек ткани и добавляют каплю эмбрионального экстракта; среду тщательно перемешивают, и после того как плазма свернётся, стёклышко перевёртывают каплей вниз и помещают над вышлифованной лункой толстого стекла. После этого края покровного стекла обмазывают парафином или воском, и капля свернувшейся среды вместе с заключённым в ней кусочком ткани оказывается в герметически закупоренном пространстве, предохранённая от высыхания и инфекции. Таким образом смонтированная культура, подобно обычному

микроскопическому препарату, вполне доступна для исследования под микроскопом, даже при самых больших увеличениях.

При втором методе применяются особые чашки Карреля. Это обычно круглые стеклянные сосудики диаметром в 3—5 см, с плоскими, строго параллельными верхними и нижними стенками и косо впаянной сбоку шейкой. На дно чашечки наливают кровяную плазму, распределяющуюся равномерным слоем около 1 мм толщиной. Сюда вносят одну или несколько тканевых частиц и после свёртывания плазмы на поверхность сгустка наливают жидкую среду желательного состава — эмбриональный экстракт, сыворотку крови и т. п. После этого горлышко флакона герметически закупоривают пробкой или резиновым колпачком.

Культивирование в флаконах имеет то преимущество, что допускает лёгкую смену питательной среды путём периодического отсасывания старой жидкости и добавления свежей.

Культуры из тканей теплокровных животных сохраняются в термостате при температурах, свойственных тем животным, от которых взяты кусочки тканей, т. е. от 37 до 39°C. Ткани холоднокровных культивируются при комнатной температуре. И те и другие должны обязательно выдерживаться в темноте; вынесение культур на свет для периодического осмотра под микроскопом не должно быть очень длительным.

В результате жизнедеятельности высаженных кусочков тканей среда культуры постепенно теряет необходимые для жизни и роста ткани питательные вещества и насыщается ядовитыми продуктами обмена тканевых клеток. Чтобы продлить жизнь культуры, необходима смена питательной среды или пересадка культуры в свежую среду.

Чем интенсивнее рост и жизнедеятельность культуры, тем быстрее среда обедняется продуктами питания и насыщается вредными для жизни ткани веществами. Поэтому смену среды или пересадки производят через различные промежутки времени для разных тканей.

Наиболее интенсивно растут культуры из зародышевых тканей, и поэтому смена среды и пересадка для таких культур необходимы каждые 48 часов. Как производится смена питательной жидкой среды в флаконах, уже указывалось выше. Для смены среды или «подкормки» культур, поставленных по методу висячей капли, снимают покровное стекло, на культуру накапывают и отсасывают несколько раз физиологический раствор, с тем чтобы отмыть культуру от продуктов обратного обмена, и затем кладут каплю свежей питательной среды. После этого покровное стекло с культурой вновь закрепляют над лункой предметного стекла и помещают в условия, необходимые для дальнейшего культивирования.

Путём смены сред удаётся значительно продлевать жизнь культуры. Так, в чашках Карреля даже наиболее интенсивно растущие эмбриональные ткани при условии смены питательной среды каждые 48 часов сохраняют полную жизнеспособность в течение 20—30 дней.

Пересадки культур, или «пассажи», заключаются в том, что из разросшейся в тот или иной срок культуры вырезают центральный участок с некоторой частью опоясывающей его ткани, делят этот вырезанный кусочек на две или несколько частей и из каждой части готовят новые культуры. После того как эти новые культуры разрастутся, их вновь делят, следующее «поколение» подвергается тем же манипуляциям и т. д. Путём пассажей можно, как это ясно видно из самого описания приёма, не только поддерживать на неопределённо долгое время жизнь тканевой культуры, но и получать с каждым пассажем всё большее и большее количество культур, ведущих своё происхождение от одной маленькой первоначально высаженной частицы ткани.

Применение метода пересадок дало возможность одному из основоположников метода культуры тканей, Каррелю, получить так называемые «вечные культуры», происходящие из кусочка сердца куриного зародыша, высаженного в 1912 г., т. е. более 35 лет назад. Эти культуры носят также название «чистых культур», так как в результате длительного культивирования всё в одной и той же среде и при одних и тех же условиях они приобретают однородный клеточный состав. Такие культуры готовились и готовятся в настоящее время многими исследователями во многих лабораториях. «Чистые» тканевые культуры имеют исключительно важное значение для тонких экспериментов, направленных на разрешение важнейших вопросов цитологии и гистологии, т. е. учения о клетке и тканях. Однородность и «стандартность» чистых тканевых культур позволяет применять при экспериментировании с ними точные количественные методы.

* * *

Уже вскоре после высадки в питательную среду на края высаженного кусочка органа или ткани можно наблюдать характерные картины жизнедеятельности клеточных элементов. Прежде всего в среду распространяются свободные, подвижные элементы, всегда имеющиеся в любом кусочке органа: это кровяные элементы — лейкоциты — и некоторые свободно-подвижные клетки соединительной ткани, так называемые гистоциты и макрофаги.

Затем в периферической зоне кусочка начинается усиленное размножение тканевых клеток и их распространение в среду. В результате вокруг высаженного кусочка образуется зона новообразованной ткани, так называемая зона роста, постепенно увеличивающаяся в размерах. Этот рост,

обусловливающийся размножением клеток и активным передвижением клеточных комплексов, продолжается до тех пор, пока в среде не истощатся питательные вещества и не наступит её насыщение ядовитыми продуктами жизнедеятельности растущей ткани.

В зависимости от тканевого состава высаженных кусочков различают три основных типа роста.

Первый, наиболее часто наблюдаемый тип роста, так называемый «травовидный», или сетчатый рост, характеризуется радиальным распространением вытянутых отростчатых клеток, образующих своими отростками то более густые, то более рыхлые сети. Такой тип роста очень характерен для зародышевой мезенхимы (эмбриональной неспециализированной соединительной ткани) и для большинства тканей взрослого организма, ведущих своё происхождение от мезенхимы. В той или иной мере сетчатый рост может быть обнаружен в культурах из кусочков любого органа, так как во всяком органе имеется то или иное количество соединительной ткани.

Второй тип роста характерен для всех пограничных эпителиальных тканей, а также для некоторых видов нейроглии. Это рост клеточными пластами, или плотными тяжами, состоящими из тесно сомкнутых друг с другом клеток.

Оба типа роста — и сетчатый и пластом — относятся к гистотипическому, истинно-тканевому разрастанию.

Наконец, третий тип, который может быть назван цитотипическим, или миграционным ростом, характеризуется зоной роста, заполненной свободными, не связанными в тканевые комплексы клетками. Миграционный рост характерен для культур белых элементов крови и лимфы.

Перечисленные три основных типа роста далеко не исчерпывают всего разнообразия картин роста различных тканей зародышей и взрослого животного. Нередко одна и та же ткань в зависимости от условий культивирования может в той или иной мере отклоняться от наиболее для неё характерного типа роста. Так, например, нейроглиальные ткани наряду с пластинчатым ростом могут давать в зоне роста и сетевидные структуры; белые элементы крови, образуя отростки и связываясь ими друг с другом, могут образовывать сетчатые тканевые комплексы, и т. п.

Особый тип роста свойственен культурам нейронов. Лишь зародышевые нервные клетки — нейробласты — способны к движению и заполнению зоны роста. Более зрелые нейробласты и специализированные нейроны в культурах дают лишь рост отростков, образующих вокруг высаженного кусочка длинные нитевидные разрастания.

Несмотря, однако, на многообразии вариаций типов роста, многочисленные и тщательные наблюдения показали, что для представителей каждого типа тканей присущ особо для них характерный тип роста. Это обстоятельство с несомненностью говорит о том, что в культурах каждая ткань сохраняет свои основные биологические свойства.

* * *

Перейдём теперь к некоторым наиболее важным результатам исследований на культурах тканей. Многие из этих результатов явились прекрасным и окончательным подтверждением ряда общих сведений по морфологии и физиологии клеток и тканей, полученных ранее другими методами микроскопического исследования. Мы не будем останавливаться на них и обратим наше внимание лишь на те основные вопросы, которые только и могли быть решены методом тканевых культур.

На культурах тканей было прежде всего с полной очевидностью показано, что огромное большинство нормальных тканей высших животных и именно те из них, которые дают при культивировании гистотипический рост, представляют собой целостные системы, а не простую сумму входящих в их состав клеток. Все элементы — клетки — этой системы обладают лишь относительной самостоятельностью; жизнедеятельность их стоит в тесной зависимости от их взаимосвязей и регулируется всей тканью в целом.

Если, например, от зоны роста продолжающей ещё расти культуры отделить небольшой участок, состоящий из сравнительно немногих клеток, то можно обнаружить, что в отдельной части, в отличие от всей культуры в целом, прекращаются клеточные деления и она в течение всего дальнейшего срока культивирования не даёт никакого прироста. Из этого опыта вытекает, что тканевые клетки способны к размножению лишь в условиях тканевого комплекса.

О тех же свойствах тканевых клеток и тканей говорят и неудачные попытки вырастить культуры из единичных или небольшого числа клеток. Оказалось, что, в какие бы оптимальные условия культивирования мы ни ставили одну или несколько клеток, количество последовательных делений в них оказывается крайне ограниченным, не приводящим к образованию тканевого комплекса. Ни пересадки, ни обновления среды не обеспечивают в таких культурах размножения клеток, и культуры довольно быстро отмирают. Лишь из кусочков или клеточных комплексов, насчитывающих не менее 30—40 клеток, удаётся получить настоящие культуры с клеточными делениями и новообразованием ткани, которые с успехом поддерживаются многократными пересадками.

На культурах из эпителиальных тканей также было показано, что отделённая от эпителиального пласта клетка неспособна — даже в наиболее

благоприятных средах — не только к размножению, но и к достаточно длительному «переживанию». Этими характерными особенностями клетки огромного большинства нормальных тканей резко отличаются от клеток злокачественных опухолей, как бы вышедший из-под регулирующего воздействия всей ткани в целом и обладающих несравненно более полной самостоятельностью. Из единичной злокачественно-перерождённой клетки, как известно, могут возникать большие, бурно растущие опухоли в организме животных и человека. Соответственно и при культивировании из одной или нескольких клеток таких злокачественных опухолей можно получить хорошо растущие тканевые культуры, поддающиеся пересадке и образующие характерные тканевые комплексы.

В организме высших животных, однако, есть и нормальные клетки, постоянно существующие как изолированные, свободные элементы: это некоторые виды лейкоцитов, или белых клеток крови. Как мы увидим далее, они по ряду биологических свойств отличаются от клеток других тканей и в культурах дают цито-типические разрастания. Будучи изолированными, они способны и к делению и к полному проявлению свойственных им функций — энергичной подвижности, фагоцитозу и т. д.

* * *

На тканевых культурах были разрешены также весьма важные вопросы об условиях, или факторах, тканевого роста.

Так, было показано, что рост ткани в культурах возможен только при наличии плотных структур, по которым происходит продвижение клеток в питательную среду. Если используются жидкие, б ею структурные среды (например, «сыворотка крови, тканевые жидкости, стерильные физиологические растворы с питательными веществами), то ткань разрастается по поверхности стекла или слюды. Как правило, клетки зоны роста в таких культурах сильно распластаны и образуют однослойные тканевые разрастания. При наличии в среде плотных структур, что имеет место, например, в плазменном сгустке, где тончайшие нити фибрина образуют тонкопетлистую сеточку, тканевые клетки встречают опорные структуры во всей толще среды и дают густые, многослойные разрастания. В таких культурах, как правило, клеточные деления протекают наиболее интенсивно и соответственно этому происходит и наиболее интенсивный рост.

Обычно прорасти всю толщу плазменного сгустка способны те ткани, которые образуют сетчатый и цитотипический рост, т. е. в первую очередь соединительная ткань и лейкоциты.

Пограничные же ткани — эпителии, — а также и некоторые ткани нейроглии, дающие, как правило, зону роста в виде пластов, разрастаются чаще всего либо по поверхности стекла, либо по свободной поверхности

плазменного сгустка. Для эпителиальных тканей в культурах кроме того характерно разрастание по поверхности высаженного кусочка, так называемая эпителизация,

Это свойство тканевых клеток расплываться или прилипать к поверхностям плотного субстрата, играющее такую важную роль в тканевом росте, получило название стереотропизма.

Итак, первым условием, необходимым для роста ткани, являются плотные «опорные» структуры. Тканевые клетки, лишённые плотной опоры, округляются и довольно скоро отмирают. Однако одного этого условия далеко не достаточно для осуществления длительного роста ткани. Для этого необходимы также особые стимулирующие рост вещества, получившие название «трефонов», т. е. питательных веществ. Наиболее интересно выяснить, имеются ли эти вещества в жидкостях организма — тканевых соках, кровяной плазме, сыворотке, лимфе и т. д.

Опыты на культурах показали, что полноценными питательными веществами, вполне обеспечивающими энергичный и длительный рост тканевых культур, очень богаты ткани эмбрионов, а также те органы взрослых животных, в которых при нормальных условиях происходит интенсивное новообразование клеток. Примером таких органов могут служить органы кроветворения: красный костный мозг, лимфатические узлы или железы, селезенка. Именно из этих органов, как и из эмбрионов, готовятся тканевые экстракты для тканевых культур, когда стремятся получить в них интенсивный и длительный рост.

Что касается плазмы крови и лимфы взрослых животных, т. е. тех жидкостей, которые питают все органы и ткани взрослого организма, то оказалось, что они почти не содержат в своём составе треонов. Больше того, на тканевых культурах было полной очевидностью показано, что плазма крови взрослых животных содержит вещества, тормозящие, задерживающие тканевый рост. Чем старше животное, тем больше в его кровяной плазме этих тормозящих веществ.

Для точного установления, являются ли те или иные вещества стимулирующими тканевый рост или нет, обычно пользуются сравнением величины зоны роста двух так называемых «сестринских» культур, происходящих из одинаковой величины кусочков чистой, много раз до этого пассированной культуры. Кусочки высаживаются в среды различного состава и культивируются в течение одного и того же срока. Если в одной из культур зона роста оказывается больше, чем в другой, мы вправе говорить, что среда первой культуры содержит больше стимулирующих рост веществ, чем второй.

Достоверность такого вывода обосновывается тем, что, как показали многочисленные опыты, два одинакового размера кусочка чистой культуры,

высаженные в одно и то же количество одинаковой по составу среды, дают за один и тот же отрезок времени зоны роста, совпадающие по величине.

Для определения величины зоны роста культуры обычно пользуются измерением площади культуры. Получив отражение культуры на экране при малом увеличении, обводят её контур и на рисунке измеряют площадь культуры. Зная площадь посаженного кусочка, легко получить величину зоны роста. Если величиной A обозначить площадь исходного кусочка, а величиной B — площадь разросшейся культуры, то $B - A$ будет выражать величину зоны роста. Отношение величины зоны роста к величине кусочка, давшего начало культуре, т. е. является показателем роста культуры.

На основании таких измерений зоны роста, производимых через определённые, произвольно устанавливаемые сроки, строятся кривые роста культуры. Обычно на оси ординат отмечается время (в днях или часах) от момента посадки, или пассажа, а на оси абсцисс — размеры зоны роста.

Естественно, что кривые роста двух сестринских культур, высаженных в среды с различной концентрацией стимулирующих рост веществ, должны оказаться различными. Анализ кривых роста показал, что культуры в среде без питательных веществ — в сыворотке крови — дают ничтожный прирост, тогда как культуры в средах, содержащих эмбриональный экстракт, дают большой прирост, говорящий об интенсивности роста культуры.

После того как только что описанным путем можно было установить, какие среды являются оптимально полноценными, стало возможным достаточно точно исследовать природу стимулирующих рост веществ.

Оказалось, что такими необходимыми для роста тканей веществами прежде всего являются начальные продукты распада белковых тел, получившие название «протеоз». Протеозы были получены путём частичного переваривания различных белков, и, как стимуляторы роста тканевых культур, они оказались весьма эффективными. Однако одних протеозов недостаточно для длительного обеспечения роста тканевой культуры. Среда, содержащая только протеозы, не может заменить эмбрионального экстракта и «вечных» культур в ней получить не удаётся. Тщательные исследования состава эмбрионального экстракта обнаружили в нём ряд веществ, представленных хотя и не в больших концентрациях, но совершенно необходимых для обеспечения процесса роста. К этим веществам, в частности, относятся особые органические соединения, носящие название нуклеиновых кислот и играющие первостепенную роль в белковом обмене живой клетки.

Приведённые данные, касающиеся исследования веществ, стимулирующих рост, являются лишь небольшой долей многочисленных исследований в этом направлении и далеко не исчерпывают всех сведений по этому вопросу, полученных на культурах тканей. Они приведены здесь только как пример, иллюстрирующий значение метода тканевых культур для разрешения одного из важнейших вопросов развития организмов.

* * *

На тканевых культурах, в особенности на чистых культурах, удаётся установить тончайшие физиологические различия между клетками разных, близкородственных тканей. При других микроскопических методах исследования эти различия могут, как правило, ускользнуть от наблюдателя.

Так, на основании анализа интенсивности роста в средах с разной концентрацией эмбрионального экстракта было обнаружено, что клетки различных видов соединительной ткани, почти не отличающиеся по своему внешнему облику и внутреннему строению, очень тонко и по-разному реагируют на концентрацию питательных веществ в среде. Если вырастить в культурах такие ткани, как соединительная ткань из мышц, соединительная ткань из сердца зародыша (фибробласты), костеобразующая ткань (остеобласты) и хрящеобразующая (хондробласты), то ни по типу разрастания, ни по общему строению клеток почти невозможно заметить различия между зонами роста этих культур. Однако это ещё не означает, что эти ткани и составляющие их клетки по своим физиологическим свойствам тождественны.

Доказательством этому служит то, что для максимального роста указанных тканей в культурах требуются различные концентрации стимулирующих рост веществ. Так, для фибробластов из сердца зародыша оптимальной оказывается среда, содержащая 40% эмбрионального экстракта, для фибробластов из мышц — 25%, для остеобластов и хондробластов — лишь 15%.

Таким образом, метод тканевых культур даёт возможность легко обнаружить тончайшие физиологические различия между клетками и тканями, с трудом отличаемыми по своему строению. Это имеет, естественно, очень большое значение в изучении клеток и тканей и даёт основу для правильного понимания многих, процессов, протекающих в организме животного.

* * *

Очень много дала методика тканевых культур в изучении белых клеток крови — лейкоцитов. Эти клетки, обладающие активной подвижностью, участвуют во многих важнейших процессах, протекающих в

организме, и являются активными участниками борьбы организма с инфекциями, отравлениями и другими болезнетворными факторами.

С введением метода культуры тканей удалось открыть ряд очень важных физиологических особенностей клеток крови и на основе этих открытий не только правильно понять многие нормальные и патологические процессы, в которых клетки крови принимают участие, но и использовать эти открытия для практических приёмов в медицине.

Выше было указано, что белые элементы крови — некоторые виды лейкоцитов — в отличие от большинства тканевых клеток способны к существованию и размножению в изолированном друг от друга состоянии. В культурах, как и в организме, они не образуют тканевых комплексов и в таком изолированном состоянии могут быть длительно культивируемы. В соответствии с этой морфологической особенностью оказываются и их физиологические свойства.

Многочисленные исследования на культурах тканей показали, что для размножения и длительного культивирования лейкоцитов (лимфоцитов и моноцитов) совершенно не требуется тех питательных веществ, о которых шла речь выше и без которых невозможно культивирование огромного большинства тканей. Больше того: заметные количества питательных веществ — эмбрионального сока — в среде, как правило, не стимулируют, а тормозят размножение этих клеток. Для них совершенно достаточной, полноценной средой является плазма и сыворотка крови. Соответствующие исследования показали, что лейкоциты обладают способностью перерабатывать компоненты плазмы и сыворотки в усвояемые клеткой питательные вещества. В культурах при использовании в качестве среды плазмы или сыворотки они как бы сами для себя готовят питательные вещества, к чему неспособно большинство тканевых клеток.

Если это так, то среда, в которой культивируются лейкоциты, должна хотя бы некоторое время обогащаться питательными, стимулирующими рост веществами.

Это предположение полностью подтвердилось. Можно было отчётливо показать, что подсадка лейкоцитов к обычной тканевой культуре, прекратившей рост, приводит к возобновлению роста культуры. Чем ближе при этом лейкоциты оказывались к зоне роста культуры, тем отчётливее сказывался эффект стимуляции роста.

Далее было показано, что сыворотка крови, в которой некоторое «время» культивировались лейкоциты, становится вполне полноценной питательной средой для культур различных тканей. Такая сыворотка, переработанная лейкоцитами, содержит питательных, стимулирующих рост веществ не меньше, чем эмбриональный экстракт.

Все эти данные осветили нам значение белых элементов крови в процессах воспаления, регенерации (восстановления) тканей, заживления ран и других важнейших процессах, протекающих в здоровом и больном организме.

По нашему предложению так называемые «трефонированные» сыворотки, обогащённые питательными веществами после культивирования в них лейкоцитов, ныне применяются в ветеринарии и медицине как средства, ускоряющие заживление ран.

На культурах тканей было также отчётливо показано и подробно изучено влияние различных факторов среды на морфологию и физиологическое состояние белых клеток крови. Выяснилось, что лейкоциты очень чувствительны к составу среды и легко изменяют не только свои физиологические свойства, но и общий облик. В тех или иных условиях среды они могут даже терять свою самостоятельность, превращаться в неподвижные вытянутые или отростчатые клетки, связываться друг с другом и образовывать настоящие соединительнотканые структуры.

Эти наблюдения и анализ причин, вызывающих подобные процессы, дали очень много для объяснения аналогичных явлений, наблюдаемых в организме здорового и больного человека.

* * *

Приведённые здесь некоторые результаты исследований лишь в малой доле освещают многочисленные достижения современной биологии и медицины, полученные на тканевых культурах. Они нужны нам были лишь как примеры, иллюстрирующие те большие успехи, каких можно добиться в разрешении важных и трудных вопросов, используя и развивая метод культуры тканей.

Можно смело утверждать, что метод этот в настоящее время оказывает неоценимые услуги самым разнообразным отраслям биологии и медицины. Им с одинаковым успехом пользуются морфологи и физиологи, микробиологи и инфекционисты, хирурги и терапевты.

Мы вправе думать, что в руках исследователей-материалистов, участвующих в развитии науки, направленной на благо и прогрессивное развитие человечества, этот метод даст ещё очень много ценного, поможет разрешить насущные, важнейшие задачи биологии и медицины.

Редактор – кандидат биологических наук А. Ф. ИВАНИЦКАЯ

А07179 Тираж – 30.000 экз. Заказ № 1670

Типография газеты «Правда» имени Сталина. Москва, улица «Правды», 24.