

А. М. ЧИЛИНГАРЯН, Е. Н. ПАРАВЯН

КУЛЬТУРА НЕРВНОЙ ТКАНИ И ДЕЙСТВИЕ КОРТИЗОНА И ПИРОГЕНАЛА НА РОСТ КЛЕТОК

За последние 15 лет значительно увеличилось количество работ по изучению нервных и глиальных клеток в условиях культивирования. Получены новые сведения о возможностях продления сроков переживающих культур нервной ткани до года и более. Исследованы влияния некоторых факторов, стимулирующих или ингибирующих рост нервных и других тканевых структур [4, 5, 7—9].

В настоящем сообщении была предпринята попытка получить избирательный рост нервных клеток воздействием на растущие культуры адетатом кортизона и пирогеналом. Выбор первого препарата был обоснован утверждением Гейгер [4] о том, что кортизон, прибавленный к питательной среде культур головного мозга, способствует избирательному росту нервных клеток. В выборе же второго препарата мы исходили из следующих соображений. Известно, что при травматических повреждениях центральной нервной системы пирогенал ингибирует рост и размножение соединительнотканых и глиальных клеток, разрыхляет рубец, создавая тем самым благоприятные условия для роста нервных волокон [1, 2, 6, 10]. Учитывая это свойство пирогенала, мы предположили, что его применение *in vitro*, с одной стороны, может оказаться полезным для получения избирательного роста нервных клеток, с другой — для выяснения механизма его непосредственного действия на соединительнотканые и глиальные клетки.

Материал и методика. Материалом для культивирования служили кусочки из различных отделов головного мозга 12—15-дневных куриных эмбрионов, 3—7-дневных котят и крысят и спинномозговые ганглии котят. Кусочки из головного мозга разрезались на мелкие частички, примерно в 1 мм², а спинномозговые ганглии культивировались целиком. Кусочки эти приклеивались смесью гепаринизированной куриной плазмы и эмбрионального экстракта к слюдинкам, которые помещались в флаконы Карреля, дно последних также покрывалось плазмой, а сверху добавлялся эмбриональный экстракт; после свертывания плазмы и экстракта добавлялась жидкая питательная среда (85 мл синтетической среды 199 + 10 мл человеческой или лошадиной сыворотки + 5 мл эмбрионального экстракта + пенициллин и стрептомицин по 100 ед/мл).

Были проведены следующие серии экспериментов:

1. Культивирование кусочков из различных отделов головного мозга и спинномозговых ганглиев производилось в питательной среде вышеприведенного состава (контрольные культуры);

2. Культивирование кусочков из головного мозга и спинномозговых ганглиев котят производилось в жидкой питательной среде с добавлением кортизона (0,01—0,05 мг/мл), причем к одной части культур кортизон прибавляли в первый день инкубирования, а к другой—на 3—5 день (т. е. после образования зоны роста);

3. Культивирование кусочков производилось в среде с добавлением пирогенала (2γ, 5γ и 10γ на 1 л жидкости).

Замена жидкой фазы производилась через каждые 72 часа. Рост культур поддерживался до 25—30 дней. Наблюдение и фотографирование культур производилось фазово-контрастным микроскопом, незначительная часть культур фиксировалась 10% нейтральным формалином и окрашивалась гематоксилином или 0,1% раствором трипановой сини. Всего было посеяно около 1500 кусочков.

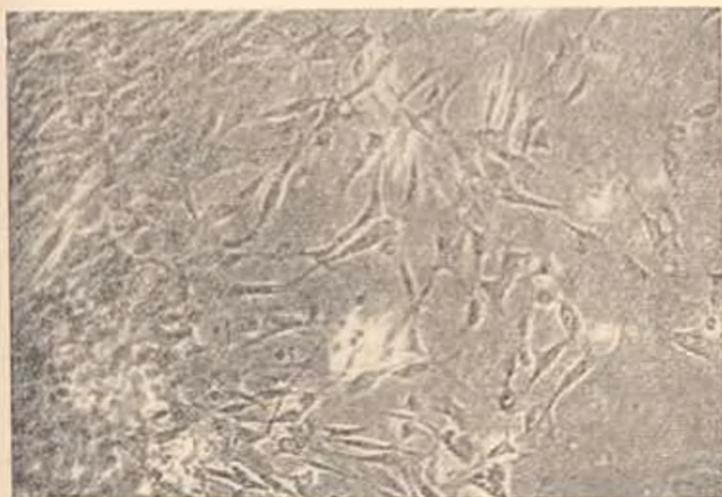


Рис. 1. 7-дневная культура спинномозгового ганглия 4-дневного котенка. Фазовый контраст. Об. 10, ок. 6, Микрофото.

Результаты. Спинномозговые ганглии. Первые признаки роста из посеянного кусочка наблюдались на вторые сутки инкубации, причем не все эксплантаты и участки эксплантатов обладали одинаковой потенцией к росту. Отмечалась миграция единичных веретенообразных клеток фибробластического типа, которые, размножаясь, образуют довольно мощный пласт клеток в последующие дни культивирования. Ближе к кусочку они расположены более компактно, а по краям зоны роста расположены рыхло с четко выраженной морфологической структурой. В клетках видны ядро и ядрышка (микрофото 1). В зоне роста нам не удалось обнаружить первые клетки и растущие нервные волокна, хотя они описаны многочисленными исследователями в культурах спинномозговых ганглиев куриного эмбриона в первые дни культивирования.

Головной мозг. Культивированные кусочки из различных отделов головного мозга росли примерно одинаково. В отличие от спинномозго-

вых ганглиев, эксплантаты головного мозга в первые дни культивирования не проявляли роста. Миграция клеток из посеянного кусочка наблюдалась лишь на третий день инкубации. В зоне роста видны фибробласты и глияльные клетки с длинными отростками, образующими синцитий. В последующие дни культивирования отмечается довольно интенсивное размножение и рост этих клеток. В цитоплазме клеток находятся многочисленные мелкие включения. В редких случаях в зоне роста наблюдались нервные клетки с многочисленными длинными ветвящимися отростками (микрофото 2).

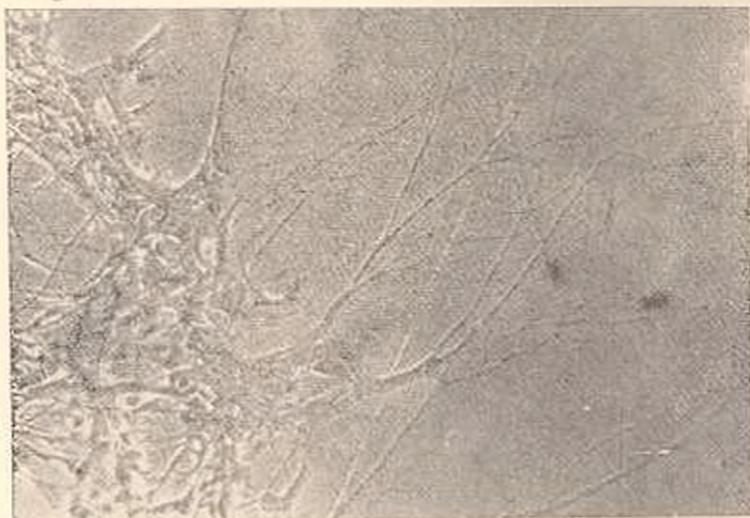


Рис. 2. 20-дневная культура переднего мозга 12-дневного куриного эмбриона. По краю препарата видны перипные клетки с ветвящимися отростками. Фазовый контраст. Об. 10, ок. 8. Микрофото.

На микрофото 3 показан рост культуры мозжечка трехдневного котенка. Наряду с глияльными клетками в центре препарата видна крупная клетка с четко выраженным ядром, в котором находятся гранулы. Отростки клетки прослеживаются на некотором расстоянии от тела. Эта клетка напоминает описанную Помератом и Кастеро [9] клетку Пуркинье.

Таким образом, в контрольных культурах мы, в основном, наблюдали рост глияльных клеток, а количество мигрировавших в зону роста нервных клеток исчислялось единицами. В этом отношении мы разделяем точку зрения С. Н. Оленова [3] о низкой миграционной способности нервных клеток. Очевидно, нервные клетки в условиях культивирования не растут, а переживают.

В серии исследований культур с кортизоном было установлено, что добавление кортизона в жидкую питательную среду в первый день культивирования, в большинстве случаев, оказывает ингибирующее действие на миграцию клеток и образование зоны роста из кусочков головного мозга, тогда как на спинномозговые ганглии он не действует.

Введение кортизона в жидкую питательную среду на 3—5 день культивирования (когда начинается миграция клеток из посеянного кусочка) не оказывает существенного влияния на рост и размножение клеток культур как из кусочков головного мозга, так и из спинномозговых ганглиев (микрофото 4). Полученные нами данные относительно подавле-



Рис. 3. 15-дневная культура мозжечка 3-дневного котенка. В центре препарата видна клетка Пуркинье. Фазовый контраст. Об. 20, ок. 8. Микрофото.

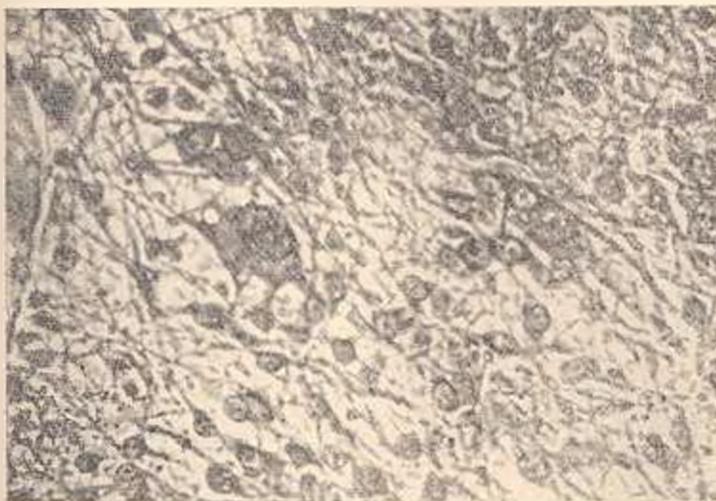


Рис. 4. 25-дневная культура коры полушарий головного мозга 4-дневного котенка после добавления кортизона на пятый день культивирования. Фазовый контраст. Об. 10, ок. 12. Микрофото.

ния роста глиальных клеток под действием кортизона соответствуют данным, описанным Гейгер [4]. Однако Гейгер, ингибцией роста глиальных клеток, получает избирательную миграцию нервных клеток в зону роста, чего мы не могли констатировать. Возможно, эти расхождения в

отношении миграции нервных клеток кроются в различных составах питательных сред, использованных нами (синтетическая среда 199) и Гейгер (естественная среда).

В серии культур с добавлением в жидкую питательную среду различных доз пирогенала (2, 5, 10 гамма на 1 л) мы не наблюдали существенного отличия в росте и миграции клеток, по сравнению с контрольными (микрофото 5).

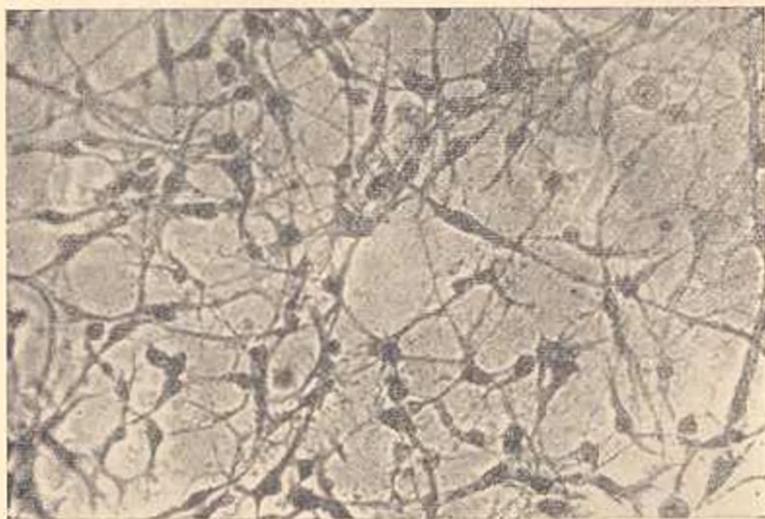


Рис. 5. 22-дневная культура коры полушарий большого мозга 3-дневного котенка, в питательную среду которой добавлялся пирогенал (10 гамма на 1 л). Фазовый контраст. Об. 10, ок. 10. Микрофото.

Таким образом, наше теоретическое предположение о получении избирательной миграции нервных клеток *in vitro* подавлением роста глиальных клеток пирогеналом, не нашло экспериментального подтверждения. Очевидно, пирогенал ингибирует рост соединительнотканых и глиальных клеток *in vivo* не прямым действием на эти клетки, а опосредованным, по-видимому, через активацию эндокринной системы.

Институт физиологии
им. акад. Л. А. Орбели АН АрмССР

Поступило 10.XI 1965 г.

Հ. Մ. ԶԻՆՆԱՐՅԱՆ, Ե. Ն. ՊԱՌԱՎՅԱՆ

ՆԵՐՎԱՅԻՆ ՀՅՈՒՍՎԱԾՔԻ ԿՈՒՆՏՈՐԱՆ ԵՎ ԿՈՐՏԻԶՈՆԻ ՈՒ ՊԻՐՈԳԵՆԱԼԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՋԻՋՆԵՐԻ ԱՃԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ս լ մ

Ներկա աշխատության մեջ ուսումնասիրվել է ներվային և գլխալ բջիջների աճը հյուսվածքային կուլտուրայի պայմաններում՝ կիսաարհեստական մի-

ջավայրում ուղեղի տարրեր հատվածներից ստացված կառուների և ողնուլեղային հանգույցների վրա:

Ներվային բջիջների բնորոշական աճ ստանալու համար օգտագործվել է կորտիզոն և պիրոզենալ: Ստացված տվյալները ցույց են տալիս կորտիզոնի ազդեցության տարրերուձյունը՝ կախված կուլտուրայի աճի ժամկետից: Կորտիզոնը բջիջների միգրացիան արգելակում է, եթե միջավայրում այն ավելացվում է փոքրի առաջին օրվանից: Սակայն երբ բջիջների միգրացիան սկսված է, նրա ավելացումը նկատելի ազդեցություն չի գործում:

Մյուս պրեպարատը՝ պիրոզենալը, չի ազդում բջիջների աճի և բազմացման վրա: Այս փաստը ցույց է տալիս, որ պիրոզենալը շարակցահանգույցաձային և գլխալ բջիջների վրա ազդում է ոչ անմիջականորեն: Ամրոզդական օրգանիզմում նրա ազդեցությունը, բայց երևույթին, պայմանավորված է այլ սխեմաների ակտիվացումով:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Матинян Л. А., Андреесян А. С. В кн.: Экспериментальные исследования и клиническое применение прогенола, М., 97—112, 1961.
2. Матинян Л. А., Андреесян А. С., Епремян Г. А. Тез докл. Симпозиума по результатам экспериментального изучения и клинического применения прогенола, М., 1963.
3. Оленов С. Н. Архив анат., гистол. и эмбриол., 2, 46—53, 1962.
4. Costero L. and Pomerai C. M. Am. J. Anatomy, 89, 3, 405, 1951.
5. Geiger R. S. Exsp cell Research, 14, 3, 541—567, 1958.
6. Freeman L. W. Ann. N. Y., Acad. Sci., 58, 564, 1957.
7. Levi-Mantalcini R., Angeletti Pietro Developm. Biol., 7, 653—659, 1963.
8. Nakai J. Amer. J. Anatomy, 1, 81—129, 1956.
9. Pomerai C. M. and Costero Am. J. Anatomy, 99, 2, 211—247, 1956.
10. Windl W. F. Charles C. Thomas Publisher, Springfield, Illinois, U. S. S. R, 1955.