

В. Э. ЛЕОНОВИЧ

ГИСТОТИПИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ В КУЛЬТУРЕ ПОЧЕЧНЫХ КЛЕТОК

При культивировании клеток отпадает не только нейрогуморальная, но и внутритканевая регуляция. Это позволяет считать методику культуры клеток одной из наиболее удачных моделей для изучения клеточной детерминации и дифференциации. В первичнотрипсинизированной культуре имеет место дифференцировка клеток вплоть до образования целых участков специфической ткани, способной нести присущие ей физиологические функции [3, 7]. С первых часов культуральной жизни клетки в значительной степени унифицируются, начиная от общей морфологической схожести, присущей клеткам в культуре, и кончая их морфологической однотипностью в перевиваемых культурах [6]. Таким образом, дифференциация и унификация — два процесса, имеющие место в культуре, находятся в определенной зависимости друг от друга. Факторы, вызывающие дифференциацию, слабее представлены в культуре, чем в организме, что ведет к преимущественной унификации *in vitro*. В случае первичнотрипсинизированных культур клетки будут, по-видимому, более склонны к процессам дифференцировки, чем перевиваемые, у которых сильнее выражена тенденция к унификации [5]. Однако образование с начала культивирования нескольких морфологических типов клеток следовало бы приписать не собственной дифференцировке клеток, а их способности сохранять присущую им в организме морфологию. Не следует отрицать роль этой информации и на последующих стадиях культивирования. На эти процессы определенное влияние оказывают условия культивирования. Перенос клетки из организма в питательную среду, несомненно, влечет за собой изменение морфологических и функциональных свойств клетки. Существует мнение, что, унифицируясь морфологически, клетки в культуре способны сохранять потенциально свои специфические физиологические свойства «до поры до времени», проявляя их при определенном изменении условий культивирования [4].

Вопрос дифференцировки и дедифференцировки в равной мере сложен и актуален. В связи с этим заслуживают внимание некоторые данные относительно специфической гистотипической дифференциации, имеющей место в первичнотрипсинизированной культуре клеток почки.

Объектом культивирования служили клетки коркового слоя почки десятидневного кролика и взрослой цесарки. Органы обрабатывались и диспергировались по общепринятой методике [10]. Посев производился на питательной среде, состоящей из гидролизата лактальбумина производства МНИИВП, с добавлением 10% телячьей сыворотки. Концентра-

ция посева 500—700 тыс. клеток в одном мл. Субстратом служили покровные стекла, опущенные на дно пробирок. Стекла с растущей культурой ежедневно извлекались, фиксировались в жидкости Буэна и окрашивались гематоксилин-эозином. Продолжительность жизни культур сменной среды через каждые четыре дня составляла 16—19 дней. Протяженность от момента посева до образования монослоя колебалась от 3 до 6 дней. Наиболее интенсивно происходила пролиферация в культуре почки десятидневного крольчонка.

Монослой в основном состоял из крупных, полигональных или округлых клеток, базофильно окрашенных, плотно прилегающих друг к другу, с большими овальными ядрами. Реже встречались клетки большей величины, округлые, со слабо окрашенной цитоплазмой и небольшим круглым ядром. Иногда обнаруживались более уклоняющиеся к фибробластоподобному типу клетки, биполярные, с крупным овальным ядром. Такого рода дифференцировку можно объяснить как сохранение клетками внутриорганных различий или различным физиологическим состоянием, в котором находились клетки к началу культивирования [1]. С образованием монослоя, а чаще на 6—8-й день культивирования, можно наблюдать появление характерных клеточных образований. Наибольшее их количество обнаруживается на 10—12-й день, что совпадает с данными Гровера [8]. Образования представляют собой обособленные, чаще замкнутые структуры, отличающиеся по своим морфологическим признакам от окружающего их монослоя. Они либо вовсе не отграничиваются от окружающих клеток (рис. 1), либо, наоборот, имеют границу в виде ве-

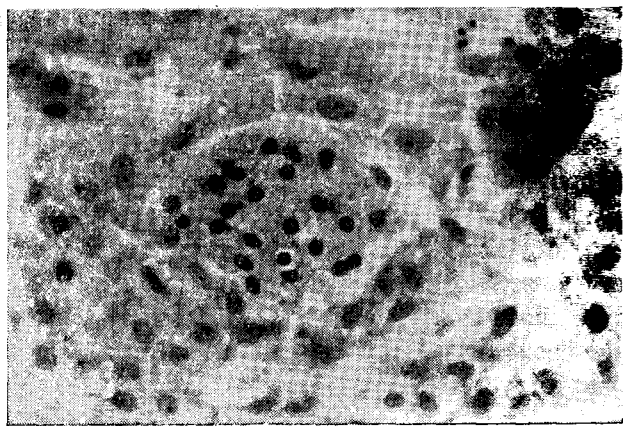


Рис. 1. Восьмидневная культура клеток почки цесарки. Фиксация жидкостью Буэна, окраска гематоксилин-эозином, увеличение 40 × гомаль 6.

ретеневидных (рис. 2), или же характерно сгруппированных фибробластоподобных клеток (рис. 3). Клетки внутри образований существенно отличаются от таковых в окружающем монослое. В некоторых случаях (рис. 4) они крупнее окружающих, со слабо окрашенной цитоплазмой

и небольшим круглым ядром. В других случаях клетки меньше окружающих, плотно сгруппированы и имеют вытянутые мелкие ядра (рис. 5). Кроме того, можно наблюдать рыхло сгруппированные клетки с круглыми, мелкими и темно окрашенными ядрами (рис. 1). Как правило,

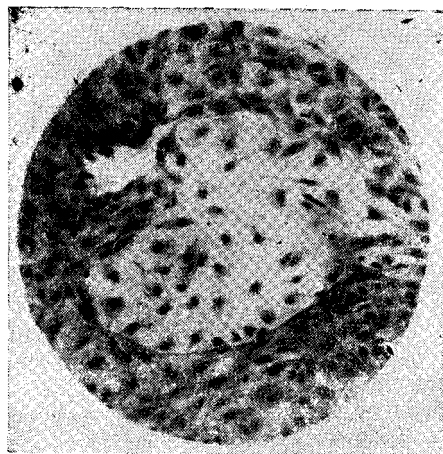


Рис. 2. Двенадцатидневная культура клеток почки кролика. Фиксация жидкостью Буэна, окраска гематоксилин-эозином, увеличение 40×7 .



Рис. 3. Тринадцатидневная культура клеток почки цесарки. Фиксация жидкостью Буэна, окраска гематоксилин-эозином, увеличение $40 \times$ гомаль 6.

ядра обособленных клеточных групп мелкие, в большинстве округлые и базофильно окрашенные, а цитоплазма имеет эозинофильные включения. Клетки внутри образований обычно принадлежат к эпителиоподобному, а окружающие—к фибробластоподобному типу. Описанные структуры в некоторой степени напоминают почечное тельце, однако идентичности

подобных гистотипических образований с почечным тельцем не бесспорна. Вполне возможно, что эти структуры являются результатом характерной для культуры механической перегруппировки клеток.

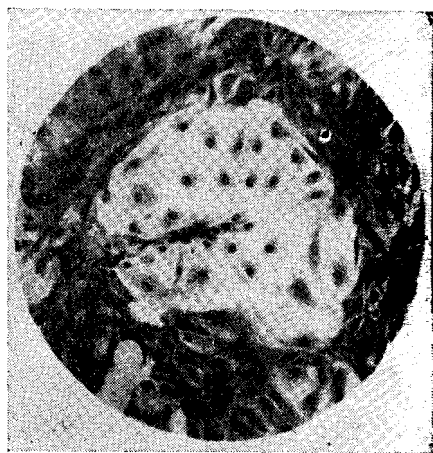


Рис. 4. Семидневная культура клеток почки кролика. Фиксация жидкостью Буэна, окраска гематоксилин-эозином, увеличение 40×7 .

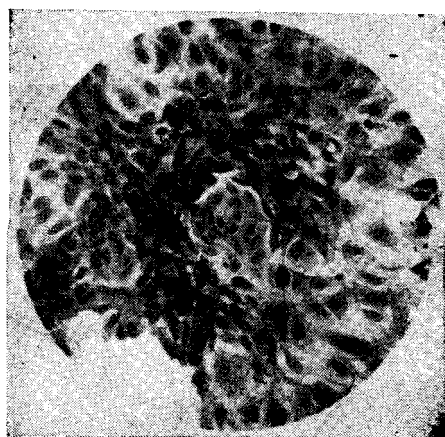


Рис. 5. Восьмидневная культура клеток почки кролика. Фиксация жидкостью Буэна, окраска гематоксилин-эозином, увеличение 40×7 .

Нами культивировались клетки легких, печени, кожи, мышцы и других тканей млекопитающих и птиц, но ни в одной из этих культур не было обнаружено образований, похожих на описанные. Последние относительно часто встречаются в почечных культурах. Следовательно, можно сделать вывод, что они характерны именно для культуры почек. Анализ литературы [1—4 и др.] и собственных данных позволяет прийти

к выводу, что описываемые структуры можно считать подобием почечного тельца.

Вероятно, на первых стадиях культивирования ряд специфических почечных клеток, несущих в себе потенциальную способность к дифференциации, дает начало гистотипической структуре, морфологически значительно отличной от окружающих ее клеток. Вполне вероятно, что образование «тельца» в культуре претерпевает определенные стадии развития. Своеобразным началом этого процесса можно было бы считать появление в культуре почки так называемых гнездных клеток [2]. Они морфологически несомненно отличаются от окружающего монослоя и выделены в обособленную группу, ничем не ограниченную от окружающих ее клеток. Следующим моментом можно считать более плотно сгруппированные образования, отличающиеся мелкими клетками с мелкими базофильными ядрами (рис. 1, 5). В последующем, клетки в «тельце» почти сливаются, образуя некоторое подобие симпласта, отграничиваются от окружающего монослоя специфическими, вытянутыми клетками (рис. 2, 3). Морфологически внутри лежащие клетки становятся еще более отличными от окружающих (рис. 4). Не находя в дальнейшем соответствующих условий в культуре для последующей дифференцировки, «тельца» дегенерируют, что наступает несколько раньше, чем гибель всего монослоя.

Имеется мнение, что в гистогенезе принимает активное участие соединительная ткань. А так как в культуре почечных клеток ее относительно мало, то этот факт может послужить причиной редкой встречаемости гистотипических структур. Препятствием к образованию подобных структур может также явиться тот факт, что культура растет только в двух направлениях. Отсутствие возможности трехмерного роста возможно и не позволяет вырасти данному образованию морфологически и даже функционально в настоящее тельце. Не вызывает сомнения и точка зрения, что чем дифференцированнее ткань в организме, тем она труднее культивируется *in vitro* [9]. Наиболее специализированной в почке можно считать ткань почечного тельца. Этим можно объяснить сравнительно малую частоту встречаемости тельцеподобных образований в культуре.

Как говорилось выше, описанные структуры были обнаружены в почечных культурах кролика и цесарки. Аналогичные образования были найдены в культуре почек эмбрионов человека, свиньи, курицы, а также в культуре почек некоторых взрослых животных [1]. Из этого следует, что тельцеподобные структуры характерны для культур почек большинства культивируемых видов, появление первых не зависит от возраста донора к моменту начала культивирования.

Таким образом, были обнаружены и описаны характерные гистотипические образования в клеточной культуре почечной ткани кролика и цесарки. Подобные структуры встречаются только в культуре клеток почки, неспецифичны для определенного вида животного и не зависят от

возраста донора. Вышеописанные клеточные образования можно рассматривать как одну из начальных стадий дифференцировки почечного тельца.

Зоологический институт АН АрмССР,
сектор гибридизации и акклиматизации

Поступило 12.XI 1966 г.

Վ. Է. ԼԵՈՆՈՎԻՉ

ՀԻՍՏՈՏԻՊԻԿ ԴԻՖԵՐԵՆՑԻԱՑԻԱ ԵՐԻԿԱՄՆԵՐԻ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ԿՈՒՆՏՐԻԲՈՒՄ

Ա. մ փ ո փ ու մ

Հետազոտվել են երիկամների բջիջների փոխակերպումները կուլտուրայում: Հաշտնաբերվել է երիկամների բջիջների համար հատկանշական՝ սպեցիֆիկ հիստոտիպիկ դիֆերենցիացիա:

Դիֆերենցիացիայի հետևանքով ստացված կառուցվածքները հիշեցնում են երիկամային կծիկները: Նման փոխակերպումները կարելի է բացատրել ներանով, որ բջիջներն ընդունակ են պահպանելու կուլտուրայում այն բնորոշ հատկանիշները, որոնք հատուկ են նրանց օրգանիզմի մեջ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Залкинд С. Я., Доссер Е. М., Дорофеев В. М. Архив АГЭ, 10, 12—13, 1965.
2. Заславский В. Г. Тр. Института препаратов против полиомиелита, 1, 385—390, 1959.
3. Манина А. А., Быстров В. Д. ДАН СССР, 103, 3, 499—502, 1955.
4. Тере И. Журнал общей биологии, 20, 3, 174—183, 1959.
5. Цыпкин Л. Б., Ройхель В. М. Архив АГЭ, 51, 7, 94—99, 1966.
6. Barski G., Cornefert F., Biedler J. L. Ann. Inst. Pasteur, 100, 3, 324—336, 1961.
7. Grobstein-Clifford Science, 143, 3067, 643—650, 1964.
8. Grover J. W. Exptl Cell Res., 24, 1, 171—173, 1961.
9. Moscona A. A. J. Cellular and Compar. Physiol., 60, 2, part 2, 65—80, 1962.
10. Youngner J. S. Proc. Soc. Biol. (N. Y.), 85, 202—210, 1954.