

Б. А. ЕЗДАНЫН

К ВОПРОСУ ОБ ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЕ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК В НАТИВНЫХ ПРЕПАРАТАХ

В настоящее время, когда в биологических исследованиях с большим успехом применяется электронный микроскоп с высоким разрешением и выяснены почти все ультраструктурные детали клеток, вопрос о прижизненной структуре клеток постепенно отодвигается на задний план. Между тем для правильной оценки многих картин, отображающих строение клетки на макромолекулярном уровне, необходимо более детальное изучение прижизненной структуры клеток.

Сказанное в равной степени касается также опухолевой клетки. До сих пор прижизненная структура опухолевых клеток изучалась только при помощи фазово-контрастного микроскопа. Хорошие снимки фазово-контрастного изображения опухолевых клеток в интеркинезе и в процессе деления опубликованы Лудфордом и Смайлом [3, 4]. В клетках перевиваемой полиморфноклеточной саркомы мышей авторы в интеркинезе наблюдали четко очерченные ядра с несколькими ядрышками и хроматиновыми глыбками. Цитоплазма же этих клеток занята плотными гранулами и светлыми промежутками между ними, образующими систему канальцев и вакуолей.

Фазово-контрастная микроскопия нашла особенно широкое применение в гематологических исследованиях. Рядом авторов изучались лейкозные клетки как в живом, так и в нативном состоянии на мазках [1, 5].

Нативные препараты до нас рассматривались в электронном микроскопе только единичными исследователями, изучавшими форменные элементы крови [2, 6, 7]. Работ же, посвященных изучению опухолевых клеток в электронном микроскопе в нативных препаратах, в литературе мы не встречали.

Известно, что принцип работы электронного микроскопа исключает возможность непосредственного исследования в нем живых клеток. Исходя из этого, мы решили продолжить поиски новых приемов для получения распластанных цельных клеток, доступных изучению в электронном микроскопе в нативном состоянии. Это может, на наш взгляд, максимально приблизить нас к выяснению некоторых ультраструктурных особенностей клетки в живом состоянии.

Клетки из мышинных асцитных опухолей (опухоль Эрлиха, саркома 37) распластывались между двумя коллодиевыми пленками в специаль-

ном приборе, сконструированном и изготовленном нами в лабораторных условиях. Принцип примененной методики заключается в том, что без всяких химических и температурных воздействий на клетки последние оказываются распластанными тонким слоем и благодаря этому становятся проницаемыми для электронов во всех своих участках. Важно и то, что при этом создается возможность изучения одних и тех же препаратов параллельно при помощи электронного и фазово-контрастного микроскопов.

Приготовленные указанной методикой препараты мы называем ультратонкими мазками, их толщина в зависимости от объекта исследования колеблется в пределах 0,1—0,14 мк.

В полном согласии с микроскопической картиной обычных фиксированных и окрашенных мазков опухолевые клетки в ультратонких мазках в общем однотипны и различаются в основном по своей величине. Они, как правило, хорошо контурированы и имеют округлую или приближающуюся к ней форму. В отличие от обычных мазков, в которых большая часть клетки занята ядром, в ультратонких мазках ядро занимает только небольшую часть, покрытую распластанной клеткой. Судя по правильно округлой или овальной форме, распластывание клеток в процессе препарирования происходит равномерно—во все стороны. Измерения показывают, что диаметр окружности распластанных клеток в 2,5—3 раза больше, чем поперечник их в обычных мазках. О равномерном распластывании свидетельствует также форма и величина ядер в клетках. Как правило, они остаются после обработки в приборе округлой формы, а их диаметр увеличивается приблизительно вдвое.

Известно, что электронномикроскопическое изображение биологических объектов принципиально отличается от такового при световой микроскопии. Если в световом микроскопе изображение различных деталей клеток определяется такими оптическими свойствами, как коэффициент преломления, способность к поглощению света или к его рассеиванию и т. д., то в электронном микроскопе изображение этих деталей зависит исключительно от их молекулярной плотности, т. е. от того, насколько они способны рассеивать электроны. Исходя из этого, мы в праве были ожидать, что структуры, наблюдаемые в фазово-контрастном микроскопе, в электронномикроскопическом изображении могут представить совершенно иную картину.

В фазово-контрастном изображении (рис. 1, 2, 3) в изученных опухолевых клетках вокруг ядер нет очерченной ядерной оболочки. Границы ядер четко видны благодаря выраженной разнице в светооптической плотности между ядром и структурами цитоплазмы вокруг ядра. При правильной фокусировке ядра, когда исключаются оптические искажения, чаще всего в кариоплазме видны дымчатые участки, иногда анастомозирующие друг с другом нежными прослойками такого же вещества. В ядрах опухолевых клеток большой оптической плотностью выделяются структуры, как правило, правильно округлой формы, вели-



Рис. 1. Микрофото. Опухолевые клетки Эрлиха в фазовом контрасте (видимый участок ядра и перинуклеарной зоны клетки, слева, в обращенном контрасте). Нативный препарат. Ув. 3200 $\times$

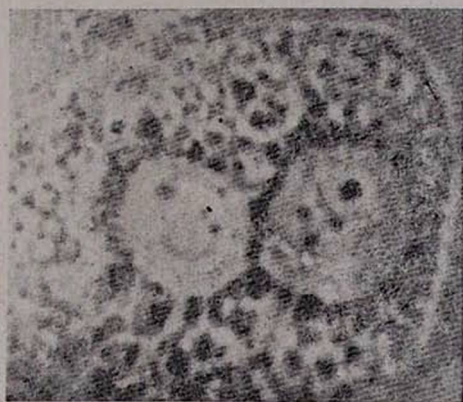


Рис. 2. Микрофото. Двухъядерная опухолевая клетка Эрлиха в фазовом контрасте. Нативный препарат. Ув. 3200 $\times$



Рис. 3. Микрофото. Опухолевые клетки саркомы 37 в фазовом контрасте. Нативный препарат. Ув. 3200 $\times$

чиной около 0,6 мк в ядрах асцитных клеток Эрлиха. Они представляют собой хромоцентры (иначе их называют кариосомами, ложными хроматиновыми ядрышками), и в одном ядре обычно их бывает несколько. Помимо них, в ядрах части клеток обнаруживаются также истинные ядрышки.

Цитоплазма опухолевых клеток в фазово-контрастном изображении выглядит ясно структурированной. Общее впечатление такое, что она состоит из основной плазмы—гиалоплазмы, обладающей малой светооптической плотностью. Гиалоплазма пронизана системой совершенно прозрачных пузырей, связанных между собой такими же прозрачными, но более узкими прослойками. В расширенных участках гиалоплазмы располагаются светооптически наиболее плотные структуры. Среди последних прежде всего бросаются в глаза митохондрии. В клетке часть их имеет непосредственно перинуклеарное расположение, остальные разбросаны по всей цитоплазме. Некоторой светооптической плотностью обладают также так называемые липосомы—крупные парампластические липидные включения. Аппарат Голджи в фазовом контрасте выглядит как система светлых пузырей и связывающих их канальцев, расположенных больше в околядерном пространстве.

На приведенных электроннограммах (рис. 4, 5) видно, что ядра опухолевых клеток обнаруживают большую электроннооптическую

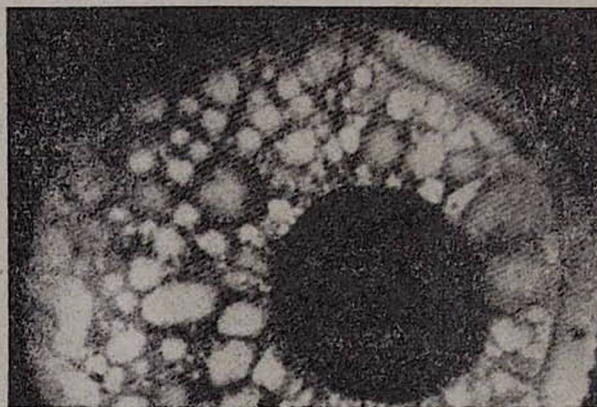


Рис. 4. Электроннограмма. Часть опухолевой клетки Эрлиха. Нативный препарат. Ув. 6400X

плотность. В пользу того, что это не обусловлено большей толщиной ультратонкого мазка в этом участке, т. е. в ядерных участках клеток, говорит следующее. На электроннограммах ясно видно, что перинуклеарное пространство в клетках имеет такую же плотность, какую имеет вся остальная цитоплазма, чего не может быть в случае неравномерной толщины мазка во всех своих участках.

В интерфазных ядрах, как и в фазовом контрасте, под электронным микроскопом не всегда обнаруживаются истинные ядрышки. В та-

ких ядрах часто имеются только хромоцентры в виде пустот округлой формы. При содержании в ядре опухолевых клеток истинных ядрышек последние обнаруживают неоднородное строение как при фазово-контрастной, так и при электронной микроскопии. В обоих случаях это связано с тем, что в основном гомогенном веществе ядрышка содержатся хромоцентры. Нередко истинные ядрышки бывают сильно гипертрофированы.

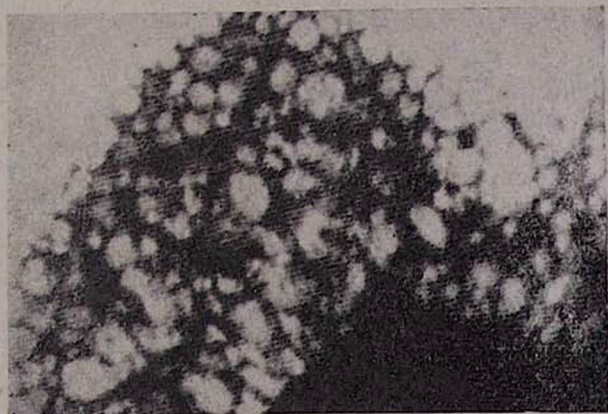


Рис. 5. Электронограмма. Часть опухолевой клетки саркомы 37. Нативный препарат. Ув. 8000X

На электронных микрофотографиях детали тонкого строения цитоплазмы лучше видны у больших клеток, которые, по-видимому, при прочих равных условиях лучше расплываются, чем средние и малые клетки. При самом малом увеличении электронного микроскопа видно, что основу цитоплазмы опухолевой клетки составляет гиалоплазма, которая при низком разрешении микроскопа (из-за относительной толщины ультратонких мазков разрешение микроскопа для внутриклеточных структур должно быть около 0,1 мк) гомогенна и обнаруживает электронооптическую плотность средней выраженности. Далее обращает на себя внимание система пузырьков и связывающих их канальцев, которыми пронизана гиалоплазма почти по всей клетке с заметным сгущением в перинуклеарном пространстве. При внимательном рассмотрении электронограмм иногда удается заметить, что описанная система пузырьков и канальцев местами сообщается с более крупными вакуолеобразными цистернами. Диаметр пузырьков, канальцев и цистерн, составляющих единую систему аппарата Гольджи, относительно постоянен и соответственно равен 0,3; 0,15; 0,8 мк.

Другой органоид клетки—митохондрии в отличие от фазово-контрастного изображения на электронограммах видны как неплотные структуры. В результате низкого разрешения микроскопа и малой

плотности структуры в ультратонких мазках не удается рассмотреть внутреннюю организацию митохондрий в нативном состоянии.

Количество митохондрий в опухолевых клетках настолько велико, что ими занята большая часть цитоплазмы клеток. Пользуясь тем, что в наших препаратах изучались цельные клетки, мы попытались произвести подсчет митохондрий в клетках. Цифры, полученные в результате подсчетов, не претендуют на арифметическую точность, но все же дают ясное представление о том, что, например, в малых клетках опухоли Эрлиха они исчисляются несколькими десятками, в средних — многими десятками, а в больших (более 20 мк) — до полутора сотни.

Митохондрии большей частью имеют округлую или овальную форму. Величина их колеблется в довольно широких пределах (0,8—1,4 мк). Длина некоторых митохондрий, если они имеют овальную форму, может достигать до 2—2,5 мк.

Клеточный центр — центросома — в интеркинезе обнаруживается в виде одного или двух электроннооптических довольно плотных телец, непосредственно рядом с ядром. Эти тельца, которые представляют собой центриоли, состоят из электроннооптически более плотного вещества по периферии и менее плотного вещества в центре.

В больших опухолевых клетках мы нередко встречали так называемые липосомы. Эти парапластические структуры являются самыми крупными образованиями в цитоплазме опухолевых клеток. Они неправильно овальной формы, размеры их колеблются между 1,3 и 3 мк. Количество липосом в указанных клетках может достигать до 10—15.

Между клетками опухоли Эрлиха и саркомы 37 существуют некоторые различия, однако они носят только количественный характер.

В заключение следует указать, что хотя в ультратонких мазках разрешение структур под электронным микроскопом весьма ограничено, это не мешает значительному расширению границ получаемых сведений о прижизненной или очень близкой к ней структуре клеток.

В ы в о д ы

1. Предложена методика приготовления препаратов (ультратонкие мазки), в которых асцитные опухолевые клетки могут быть изучены в нативном состоянии параллельно при помощи фазово-контрастного и электронного микроскопа.

2. Изучение нативных препаратов из асцитных клеток опухоли Эрлиха и саркомы 37 при помощи электронного микроскопа выявило ряд характерных структурных деталей, которые, по-видимому, отражают некоторые прижизненные ультраструктурные особенности опухолевых клеток.

Բ. Ա. ԵԶՂԱՆՅԱՆ

ՆԱՏԻՎ ՊՐԵՊԱՐԱՏՆԵՐՈՒՄ ՈՒՌՈՒՑՔԱՅԻՆ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ԷԼԵԿՏՐՈՆԱՅԻՆ
ՄԻԿՐՈՍԿՈՊԻԱԿԱՆ ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔԻ ՀԱՐՑԻ ՇՈՒՐՋԸ

Ա. մ. փ. ռ. փ. ռ. մ.

Առաջարկված է պրեպարատների (գերբարակ քսուկների) պատրաստման մեթոդ, որի միջոցով ասցիտային ուռուցքային բջիջները կարող են ուսումնասիրվել նախիվ դրությամբ՝ զուգահեռաբար ֆազա-կոնտրաստային և էլեկտրոնային միկրոսկոպների օգնությամբ:

էուլիսի և սարկոմա-37 ուռուցքների ասցիտային բջիջներից պատրաստված նախիվ պրեպարատների էլեկտրոնային միկրոսկոպի օգնությամբ ուսումնասիրությունը ի հայտ բերեց մի շարք բնորոշ կառուցվածքային մանրամասեր, որոնք, ըստ երևույթին, արտացոլում են ուռուցքային բջիջների կենդանության օրոք ունեցած որոշ ուլտրակառուցվածքային առանձնահատկությունները:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Безносиков Б. О. Лабораторное дело, 1962, 3, 16.
2. Гольдин Л. С. ДАН СССР, 1957, 117, 4, 701.
3. Ackerman G. A. and Bellios N. C. Blood, 1955, 10, 1183.
4. Bessis M. Blood, 1950, 5, 1083.
5. Ludford R. J., Smiles J., Welch F. V. J. Roy. Micr. Soc., 1948, 68, 1.
6. Ludford R. J., Smiles J. J. Roy. Micr. Soc., 1952, 72, 149.
7. Stobbe H. Haematologischer Atlas, Berlin, 1960.