

TARTU RIIKLIKU ÜLIKOOLI

TOIMETISED

УЧЕННЫЕ ЗАПИСКИ

ТАРТУСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

ACTA ET COMMENTATIONES UNIVERSITATIS TARTUENSIS

498

ВОПРОСЫ

МОРФОГЕНЕЗА И РЕГЕНЕРАЦИИ

MORFOGENEESI JA REGENERATSIOONI

KÜSIMUSI

ТРУДЫ ПО МЕДИЦИНЕ

ARSTITEADUSLIKKE TÖID

XLI

Редакционная коллегия

А. И. Лепп (отв. редактор), Ю. Э. Арэнд, Ю. П. Хуссар

О ВЛИЯНИИ ДВУСТОРОННЕЙ ЭНУКЛЕАЦИИ НАДПОЧЕЧНИКОВ НА РЕПАРАТИВНУЮ РЕГЕНЕРАЦИЮ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ В РАНЕ ПЕЧЕНИ У БЕЛЫХ КРЫС

Ю. Э. Аренд, В. А. Силласту, Т. Ю. Торпатс, А. Ю. Труупыльд
Кафедра гистологии и кафедра патологической анатомии ТГУ

Эндокринная регуляция репаративной регенерации соединительной ткани при воспалении, заживлении ран и других процессах является относительно хорошо разработанным вопросом. Большое количество работ посвящено и изучению влияния гормонов коры надпочечников на пролиферативные процессы соединительной ткани. Показано, что гликокортикоиды подавляют разрастание соединительной ткани, а минералокортикоиды повышают активность мезенхимальной реакции [1, 4, 5, 7, 8].

Эстонскими морфологами широко используется в качестве модели для исследования пролиферативных процессов соединительной ткани рана печени от прижигания [2, 3]. Распространенным методом для изучения регенерации коры надпочечников является энуклеация названного органа по Эвансу [6].

В настоящей работе нас интересовала возможность применения этих двух тестобъектов одновременно у одних и тех же животных и тем самым выяснение влияния энуклеации надпочечников на пролиферативные процессы соединительной ткани.

Методика. Опыты проведены на 88 молодых половозрелых белых крысах-самцах. Всем животным наносили гальванокаутером рану стандартной величины в печень, 44 крысам дополнительно одновременно производили билатеральную энуклеацию надпочечников по Эвансу. Продолжительность опытов была 1, 3, 6, 12 и 30 суток. После умерщвления животных путем передозировки эфирного наркоза кусочки из раны печени фиксировали в жидкости Максимова и заливали в целлоидин и парафин. Микротомные срезы окрашивались гематоксилином и эозином, по ван Гизону, ШИК-реакцией, альциановом синим и по Фель-

гену. В ране печени в 3- и 6-дневных опытах определяли среднюю толщину пояса грануляционной ткани (зоны организации) вокруг некротического очага в микрометрах (среднее измерений из 10 разных мест). В 12- и 30-дневных опытах грануляционная ткань врастает в некротический очаг и разделяет его на участки, поэтому площадь грануляционной ткани определяли планиметрическим способом. МК фибробластов в 3—30-дневных опытах определяли на препаратах, окрашенных по Фельгену (подсчитывали минимально 5000 клеток от каждого животного под увеличением 10×90). Все цифровые показатели подвергались статистической обработке.

Результаты опытов. Макроскопическое исследование животных при взятии материала показало, что большая часть крыс была поражена лабораторной инфекцией (кокцидиозом).

При микроскопическом анализе выясняется, что за одни сутки после нанесения ран печени по периферии некротического очага образуется лейкоцитарный вал, состоящий из уже частично распавшихся гранулоцитов, лимфоцитов и макрофагов. Двусторонняя энуклеация надпочечников не оказывает заметного влияния на интенсивность клеточного инфильтрата, но заметно изменяется состав его. В опытах только с раной печени среднее число гранулоцитов в инфильтрате 456 ± 10 , мононуклеаров 544 ± 12 клеток. При двусторонней энуклеации гранулоцитов больше — 713 ± 8 , а мононуклеаров соответственно 287 ± 9 , ($p<0,001$). Очевидно при двусторонней энуклеации надпочечников имеет место запаздывание формирования лейкоцитарного инфильтрата и появления мононуклеаров-макрофагов в поле воспаления.

К 3-му послеоперационному дню некротический очаг в ране печени окружен поясом макрофагов. Вблизи сохранившихся междольковых пространств вокруг некроза появляются группы молодых фибробластов и нежные коллагеновые волокна. Общая толщина пояса развивающейся соединительной ткани $28,6\pm 1,7$ мкм (среднее от 10 животных). В группе опытов с энуклеацией надпочечников процесс имеет такой же характер, но протекает несколько более интенсивно — общая толщина пояса соединительной $37,1\pm 2,6$ мкм, $p<0,01$ (рис. 1 и 2).

В 6-дневных опытах вокруг некротического очага образована мощная зона организации, состоящая из слоя макрофагов-полибластов (непосредственно вокруг некроза) и из слоя созревающей соединительной ткани с фибробластами и коллагеновыми волокнами. Общая толщина пояса грануляционной ткани составляет $139,2\pm 10,8$ мкм. В условиях энуклеации надпочечников в этой группе соединительнотканная реакция почти такая же, или несколько слабее, чем у крыс с интактными надпочечниками. Общая толщина зоны организации $110,1\pm 12,3$ мкм ($p>0,05$).

В 12-дневной группе грануляционная ткань врастает тяжами в целостностный до сих пор некротический очаг и разделяет его

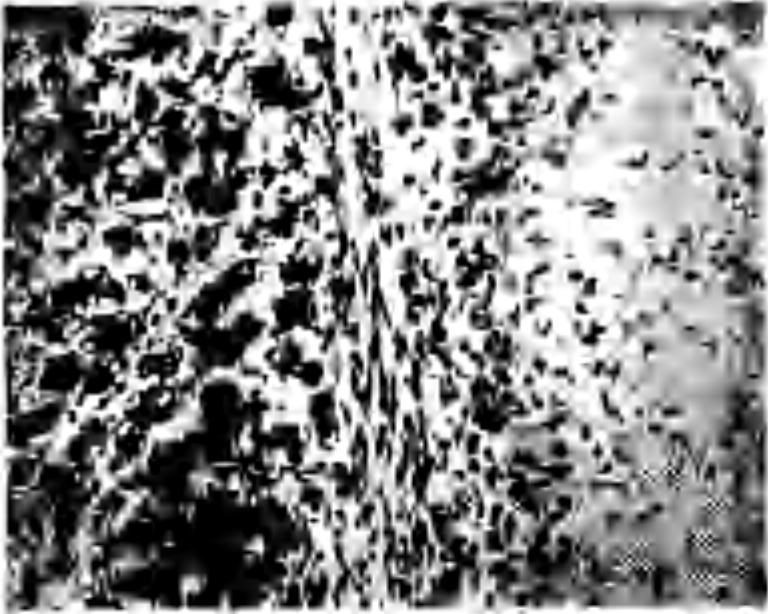


Рис. 1. Рана печени белой крысы. Срок опыта 3 дня. Зона организации из макрофагов-полибластов и фибробластов между некротическим очагом и печеночной тканью. Микрофотограмма. Ван Гизон. Увеличение 200 X.



Рис. 2. Рана печени белой крысы. Двусторонняя энуклеация гепатоцитов. Срок опыта 3 дня. Соединительнотканная реакция заметно интенсивнее. Микрофотограмма. Ван Гизон. Увеличение 200 X.

на участки. Измерять толщину пояса разрастающейся соединительной ткани уже не представляется возможным, поэтому определяли площадь грануляционной ткани планиметрически-весовым методом. Оказывается, что при двусторонней энуклеации надпочечников имеет место тенденция к более интенсивному разрастанию соединительной ткани, но разница эта статистически недостоверная (вес площади грануляционной ткани при энуклеации надпочечников $866,9 \pm 147,0$ мг, а только с повреждением печени $650,0 \pm 69,1$ мг, $p > 0,05$).

В 30-дневной группе опытов сохраняются в разрастающейся соединительной ткани лишь мелкие участки некротизированной ткани. По сравнению с опытами нанесения только раны печени, двусторонняя энуклеация надпочечников не обуславливает существенных сдвигов.

Во всех группах опытов двусторонняя энуклеация надпочечников не оказывает существенного влияния на синтез нейтральных и кислых мукополисахаридов в клеточных элементах разрастающейся соединительной ткани, а также на содержание гликогена в гепатоцитах далее от раны печени.

Подсчет митозов фибробластов в грануляционной ткани показывает некоторую стимуляцию разрастания фибробластов в ранних сроках опытов при энуклеации надпочечников. В 3-дневных опытах средняя величина МК $1,46 \pm 0,29$, в 6-дневных опытах $1,48 \pm 0,46$; при энуклеации надпочечников соответственно $2,1 \pm 0,22$ и $1,96 \pm 0,29$, но статистически разницы недостоверные. В 12-дневных опытах митотическая активность фибробластов уже значительно снижается ($1 \pm 0,19$ только с раной печени и даже $0,53 \pm 0,11$ при энуклеации; $p < 0,001$). В 30-дневных опытах митозов в фибробластах весьма мало и никакой разницы между двумя группами не наблюдается.

Результаты настоящей работы показывают, что двусторонняя энуклеация надпочечников оказывает лишь слабое влияние на разрастание соединительной ткани в ране печени. Некоторое ускорение процесса в 3- и 12-дневных опытах и стимуляцию МК в ранних стадиях опытов очевидно можно объяснить ослаблением влияния глюкокортикоидов. При энуклеации надпочечников целостность клубочковой зоны, где вырабатываются минералокортикоиды, страдает меньше, чем более центральные части, вырабатывающие глюкокортикоиды. Общеизвестно, что глюкокортикоиды подавляют, минералокортикоиды стимулируют рост соединительной ткани. Очевидно нарушение равновесия между минералокортикоидами и глюкокортикоидами в пользу первой группы ведет к некоторой стимуляции разрастания соединительной ткани. Опыты данного исследования показывают, что в дальнейших работах можно успешно одновременно у одних и тех же животных применять два тестобъекта: рану печени от при-

жигания и двустороннюю энуклеацию надпочечников, что, несомненно, расширяет возможности исследовательской работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Альперн Д. Е. Воспаление. Медгиз, М., 1959.
2. Аренд Ю. Э. О влиянии различных отделов нервной системы на реактивные свойства соединительной ткани. Дисс. докт. мед. наук. Тарту, 1968.
3. Боговский П. А., Лоогна Г. О. Методика изучения процессов соединительнотканной репарации. Арх. патол., 1960, 22, 4, 81—83.
4. Войткевич А. А. Восстановительные процессы и гормоны. Медицина Л., 1965.
5. Елисеев В. Г. Соединительная ткань. Медгиз, М., 1961.
6. Труупыльд А. Ю. Физиологическая и репаративная регенерация надпочечников. Автореф. докт. дисс., Тарту, 1969.
7. Asboe-Hansen, G. The hormonal control of connective tissue. Intern. review. connect. tissue. N. Y.—London, 1963, 1, 29—61.
8. Heilmeyer, L., Kähler, H. J. Die Entzündung und ihre Steuerung. *Helv. Medica Acta. Suppl.* XL. Basel/Stuttgart, 1962.

ON THE INFLUENCE OF BILATERAL ENUCLEATION OF THE SUPRARENAL GLAND ON THE REPARATIVE REGENERATION OF THE CONNECTIVE TISSUE OF THE LIVER WOUND IN WHITE RATS

Ü. Arend, V. Sillastu, T. Torpats, A. Truupõld

Summary

As the histological research in tests lasting from 1 to 30 days in white male rats proved, the bilateral enucleation of the suprarenal gland has only a moderate effect on the proliferation of connective tissue in the liver wound, causing in 3-day-long and 12-day-long tests some acceleration of the connective tissue proliferation.

The results of the tests proved that it is possible to use two testmodels — the bilateral enucleation of the suprarenal gland and that of the liver wound — in the research of regenerative processes in the same animals simultaneously.

О РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ КОРЫ ЭНУКЛЕИРОВАННЫХ НАДПОЧЕЧНИКОВ ПРИ ОДНОВРЕМЕННОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ПЕЧЕНИ У КРЫС

А. Ю. Труупыльд, Т. Н. Труупыльд, Ю. Э. Аренд

Кафедра патологической анатомии и судебной медицины,
Центральная медицинская научно-исследовательская лаборатория
и кафедра анатомии и гистологии ТГУ

Репаративная регенерация коры надпочечника после вылу- щивания органа через разрез капсулы (энуклеации) изучена у крыс многими исследователями [1, 2, 6, 7, 9, 10]. В некоторых работах изучены также гормональные регуляторные механизмы восстановления коры энуклеированного надпочечника [3—5]. В то же время нет данных о том, как протекает репарация коркового вещества в условиях комбинированного повреждения, т. е. после одновременного повреждения надпочечников и еще како- го-либо другого органа. Разрешение этого вопроса, однако, имеет принципиальное значение при создании экспериментальной мо- дели для комплексного одновременного изучения репаративной регенерации в различных органах. Поэтому целью настоящей работы явилось изучение репаративной регенерации коркового вещества энуклеированных надпочечников при одновременной регенерации соединительной ткани в ране печени.

Опыты были поставлены на 93 взрослых белых крысах- самцах. В первой серии опытов была произведена двусторонняя энуклеация надпочечников по Эвансу [8], а во второй — нанесена рана печени стандартных размеров путем прижигания в комбинации с двусторонней энуклеацией надпочечников. Жи- вотные умерщвлялись через 1, 3, 6, 12 и 30 суток после оператив- ных вмешательств в одно и то же время суток (от 11 до 13 час.). Надпочечники обрабатывались общепринятыми гистологиче- скими методами. Площадь, занимаемая кортикальной тканью на срединном гистологическом срезе, определялась с помощью гис- тотопографических рисунков. На них отмечались границы коры

Т а б л и ц а
 Площадь адренокортикальной ткани в мм² на срединном срезе надпочечника в разные сроки после энуклеации
 надпочечников (ЭН) и нанесения раны печени (РП)

	1 суток		3 суток		6 суток		12 суток		30 суток	
	ЭН	ЭН+РП	ЭН	ЭН+РП	ЭН	ЭН+РП	ЭН	ЭН+РП	ЭН	ЭН+РП
Отдельные случаи	0,31	0,13	0,27	0,20	0,53	0,63	1,01	1,06	2,02	1,49
	0,39	0,29	0,53	0,32	0,61	0,82	1,16	1,30	2,60	2,27
	0,45	0,42	0,77	0,39	0,67	0,92	1,16	1,35	2,94	2,80
	0,64	0,59	0,80	0,56	0,68	1,01	1,35	1,54	3,13	2,89
		0,65	0,94	0,67	0,72	1,11	1,74	1,74	3,37	3,01
			0,94	0,73	0,80	1,11	2,27	1,98	3,42	3,37
			1,04	0,89	1,11	1,40	2,46	2,65	4,05	3,42
			1,35	1,11	1,16	1,83	2,60	2,84	4,43	4,58
				1,21	1,45	3,04	2,94	2,89	5,01	4,69
					1,45		4,19			
Средняя величина	0,45±0,07	0,42±0,09	0,83±0,12	0,69±0,10	0,92±0,11	1,32±0,24	2,09±0,30	1,93±0,23	3,44±0,31	3,17±0,34
Значение р	р>0,8		р>0,3		р>0,1		р>0,7		р>0,5	

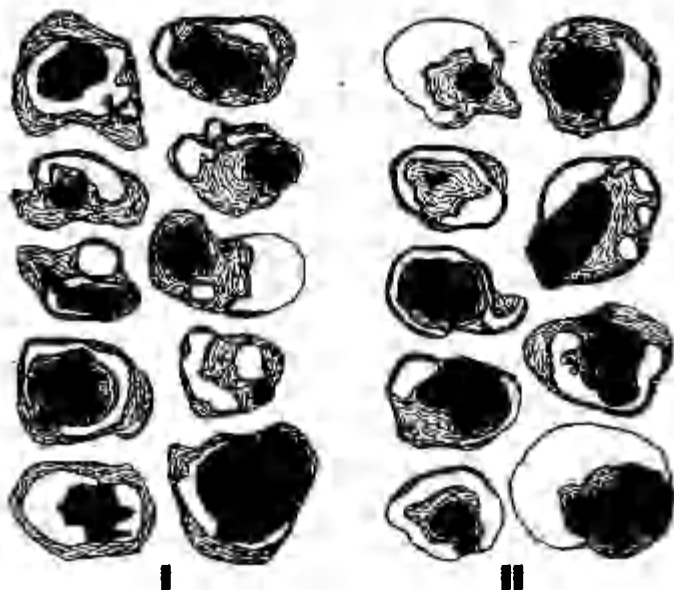


Рис. 1. Гистотопографические рисунки надпочечников через 6 суток после операции.

I — I серия, II — II серия опытов.

Белые участки — аденокортикальная ткань;

черные участки — некротизированная ткань;

участки с волнистыми линиями — соединительная ткань. Ув. 20.

и ее отдельных зон. Впоследствии соответствующие контуры были перенесены на картон, а затем ограниченные ими участки вырезались и взвешивались. На основе полученных весовых величин вычислялась средняя величина площади коры надпочечника и ее зон на гистологическом срезе по формуле $S = \frac{p}{k}$, где S — средняя площадь измеряемого участка на срезе в мм^2 ; p — средний вес вырезанного картона в мг, соответствующего изучаемому участку на срезе; k — вес участка картона в мг, соответствующего площади 1 мм^2 на гистологическом срезе. Все количественные данные подвергались статистической обработке.

Данные об изменениях площади регенерирующей аденокортикальной ткани приведены в таблице. Гистологический и морфометрический анализ препаратов показывает, что процессы репарации коркового вещества в I и II сериях опытов протекают одинаково во все сроки исследования.

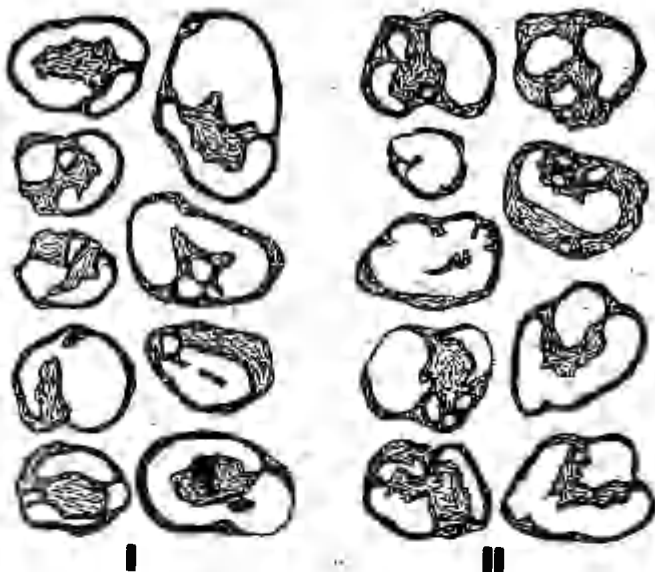


Рис. 2. Гистотопографические рисунки надпочечников через 12 суток после операции.
 I — I серия, II — II серия опытов.
 Обозначения те же, что и на рис. 1. Ув. 20.

В ранние сроки (через 1 сутки после операции) в полости, образовавшейся после энуклеации органа, видны сверток крови, обрывки некротизированной ткани и элементы экссудата. Под капсулой имеются сохранившиеся островки или узкий слой клеток клубочковой зоны, общая площадь которых равняется $0,45 \pm 0,07 \text{ мм}^2$ для I и — $0,42 \pm 0,09 \text{ мм}^2$ для II серии опытов ($p > 0,8$).

Через 3 суток сохранившиеся под капсулой аденокортикальные клетки проявляют признаки дедифференцировки: их цитоплазма становится резко базофильной, увеличиваются размеры ядрышка. Отсутствует характерное для подкапсулярной зоны расположение клеток в виде клубочков. Часто встречаются фигуры митотического деления клеток. Средняя площадь аденокортикальной ткани на срединном срезе надпочечников составляет в этот срок в I серии опытов $0,83 \pm 0,12 \text{ мм}^2$, а во II — $0,68 \pm 0,10 \text{ мм}^2$ ($p > 0,3$).

Через 6 суток регенерат в виде более или менее выраженного подкапсулярного слоя или узлов (рис. 1) составляет уже 20—30% от площади коры интактного надпочечника ($4,20 \pm 0,21 \text{ мм}^2$).

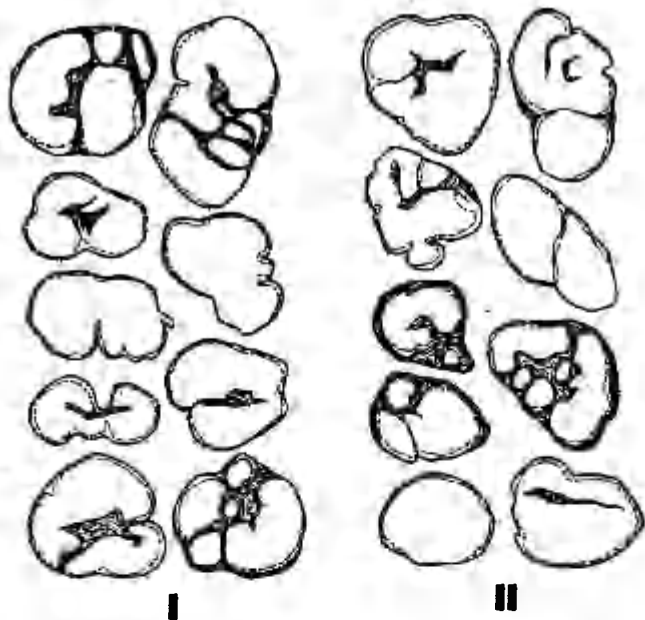


Рис. 3. Гистотопографические рисунки надпочечников через 30 суток после операции.

I — I серия, II — II серия опытов.

Белые участки — адренокортикальная ткань; участки с волнистыми линиями — соединительная ткань.

Прерывистой линией обозначена граница между клубочковой и пучковой зонами. Ув. 20.

Площадь адренокортикальной ткани равна в I серии опытов $0,92 \pm 0,11 \text{ мм}^2$, а во II — $1,32 \pm 0,24 \text{ мм}^2$ ($p > 0,1$). Активный рост регенерата обеспечивается в обеих сериях опытов весьма высокой митотической активностью кортикальных клеток. Существенным условием роста регенерата является элиминация мертвых масс и замещение их грануляционной тканью, причем взаимное расположение врастающих в грануляционную ткань тяжей новообразованных кортикальных клеток в значительной степени определяется ориентацией волокнистых структур и синусоидных капилляров.

Через 12 суток общая площадь восстановленной коры составляет уже $2,09 \pm 0,39 \text{ мм}^2$ в I и $1,93 \pm 0,23 \text{ мм}^2$ — во II серии опытов ($p > 0,7$). Регенерат занимает периферическую часть органа в виде более или менее выраженного слоя или узловатых образований, разделенных соединительнотканнными прослойками (рис. 2). Кое-где в новообразованной ткани отмечаются

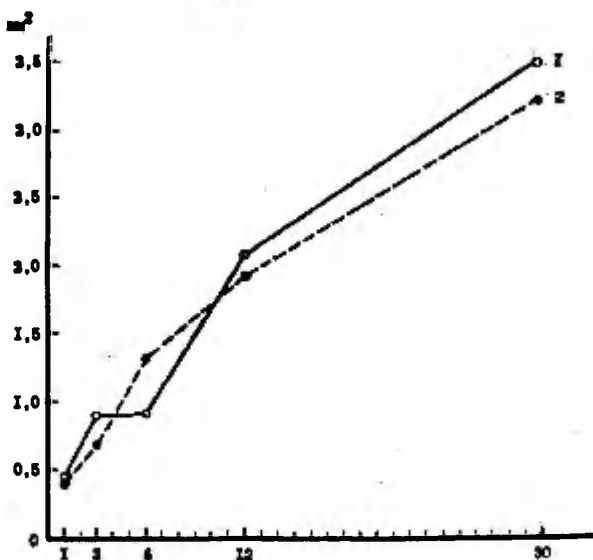


Рис. 4. Площадь адренокортикальной ткани на среднем срезе надпочечника.
 1 — I серия, 2 — II серия опытов.
 По оси абсцисс — дни после операции, по оси ординат — площадь в мм^2 .

признаки дифференцировки ее на клубочковую и пучково-сетчатую зоны. Митозы встречаются уже неравномерно, в основном в наружных отделах регенерата, расположенных ближе к капсуле надпочечника. В центральной части органа находится волокнистая соединительная ткань и в отдельных случаях — небольшие скопления неэлиминированных некротических масс.

Через 30 суток регенерат в обеих сериях опытов сформирован. Корковое вещество, разделенное местами на сегменты тонкими соединительнотканными перегородками, занимает практически весь орган (рис. 3). Площадь восстановленной коры охватывает для I и II серий опытов соответственно $3,44 \pm 0,31$ и $3,17 \pm 0,34 \text{ мм}^2$ ($p > 0,5$). Хорошо выражена зональная дифференцировка коркового вещества на клубочковую и пучково-сетчатую зоны. Величины средней площади этих зон в I и II сериях опытов практически совпадают, составляя соответственно для клубочковой зоны $0,45 \pm 0,02$ и $0,45 \pm 0,03 \text{ мм}^2$ и для пучково-сетчатой — $2,99 \pm 0,30$ и $2,72 \pm 0,31 \text{ мм}^2$ ($p > 0,5$).

Динамика увеличения площади адренокортикальной ткани в ходе репарации энуклеированных надпочечников показана вместе для I и II серий опытов на рис. 4. Видно, что соответствующую

шие кривые идут совершенно параллельно. Таким образом, одновременная регенерация соединительной ткани в ране печени не оказывает какого-либо существенного влияния на рост и развитие восстанавливающейся коры в энуклеированных надпочечниках.

ЛИТЕРАТУРА

1. Труупыльд А. Ю. *Арх. анат.*, 55, 10, 29—37, 1968.
2. Труупыльд А. Ю. В кн.: Регуляторные механизмы регенерации. Под ред. А. Н. Студитского, Л. Д. Лиознера. М., «Медицина», 1973, 132—145.
3. Труупыльд Т. Н. *Арх. анат.*, 66, 3, 81—89, 1974.
4. Труупыльд Т. Н. *Арх. анат.*, 68, 5, 31—37, 1975.
5. Труупыльд Т. Н., Труупыльд А. Ю. В кн.: Тканевая биология. Мат. второго респ. совещания 1—2 июня 1976 г. Тарту, 1976, 38—42.
6. Crane, W. A. J., Ingle, D. J. *Arch. Path.*, 79, 2, 169—176, 1965.
7. De Groot, J., Fortier, C. *Anat. Rec.*, 133, 3, 565—573, 1959.
8. Evans, G. *Am. J. Physiol.*, 114, 2, 297—308, 1936.
9. Greer, R. O., Deane, H. W. *Endocrinology*, 45, 1, 42—56, 1949.
10. Ingle, D. J., Higgins, G. M. *Am. J. M. Sci.*, 196, 2, 232—239, 1938.

ON CORTICAL REPARATION OF THE ENUCLEATED ADRENALS IN RATS WITH SIMULTANEOUS LIVER WOUND

A. Truupõld, T. Truupõld, U. Arend

Summary

Adrenocortical regeneration was investigated in rats after either a bilateral enucleation of the adrenals only or an analogous damage of the adrenals in combination with a thermic liver wound. The adrenals were fixed at intervals of 1, 3, 6, 12 and 30 days after the operation. The quantitative data of the changes of the extent of cortical reparation are presented. A conclusion has been drawn that the regenerative process in the enucleated adrenals is not influenced by the simultaneous regeneration of conjunctive tissue in the liver wound.

О МИТОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КЛЕТОК АДЕНОГИПОФИЗА В УСЛОВИЯХ ПОВРЕЖДЕНИЯ НАДПОЧЕЧНИКОВ В ПЕЧЕНИ

А. Ю. Труупыльд, Т. Н. Труупыльд, Ю. Э. Аренд

Кафедра патологической анатомии и судебной медицины,
Центральная медицинская научно-исследовательская лаборатория
и кафедра анатомии и гистологии ТГУ

В настоящее время известны изменения митотической активности и синтеза ДНК в клетках аденогипофиза после удаления таких периферических эндокринных желез, как щитовидная железа, надпочечники, гонады [4—8]. В то же время нет данных о пролиферативной активности клеток аденогипофиза в условиях наличия очагов повреждения и их репаративной регенерации в различных органах, в том числе и эндокринных. Ранее нами [1, 2] было установлено, что через 45 суток после многократного повреждения (энуклеации) надпочечников у крыс митотический коэффициент в аденогипофизе ($0,28 \pm 0,05\%$) находится в пределах контрольного уровня ($0,23 \pm 0,03\%$). Целью настоящей работы является изучение митотической активности клеток аденогипофиза в разные сроки после повреждения не только обоих надпочечников, но и после нанесения раны печени у экспериментальных животных.

Опыты были поставлены на 137 взрослых белых крысах-самцах. В I серии опытов была произведена двусторонняя энуклеация по Эвансу [3], во II — нанесена рана печени стандартных размеров от прижигания и в III — одновременно повреждены надпочечники (энуклеация) и печень (рана от прижигания). Животных умерщвляли через 1, 3, 6, 12 и 30 суток после операции в одно и то же время суток (от 11 до 13 час.). Гипофизы обрабатывались общепринятыми гистологическими методами.

Количественный анализ митозов был произведен на основе подсчета клеток аденогипофиза на протяжении одного среза органа, причем общее количество подсчитанных клеток было не

Таблица

Митогенная активность клеток аденогипофиза в различных условиях повреждения надпочечников и печени

Срок после операции	Двусторонняя энуклеация надпочечников		Рана печени от ирижгания		Двусторонняя энуклеация надпочечников + рана печени	
	МК в $\frac{\%}{100}$	значение Р по отношению к контролю	МК в $\frac{\%}{100}$	значение Р по отношению к контролю	МК в $\frac{\%}{100}$	значение Р по отношению к контролю
1 сутки	0,28 ± 0,07	p > 0,6	0,20 ± 0,05	p > 0,8	0,33 ± 0,05	p > 0,9
3 суток	0,81 ± 0,12	p > 0,1	0,32 ± 0,05	p > 0,9	0,79 ± 0,11	p > 0,1
6 суток	1,32 ± 0,19	p < 0,01	0,23 ± 0,06	p > 0,3	1,14 ± 0,15	p < 0,02
12 суток	0,24 ± 0,03	p > 0,2	0,26 ± 0,03	p > 0,3	0,29 ± 0,03	p > 0,7
30 суток	0,31 ± 0,05	p > 0,9	0,22 ± 0,03	p > 0,1	0,21 ± 0,02	p > 0,5

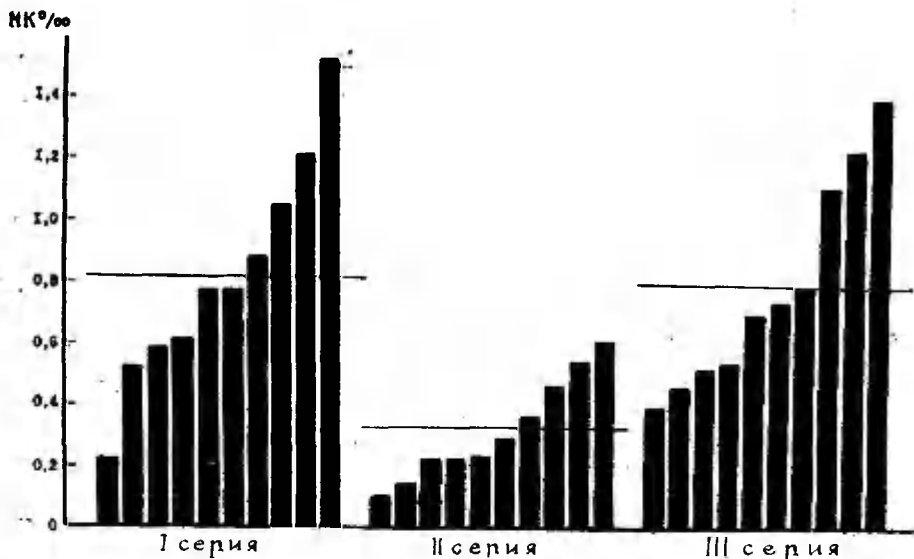


Рис. 1. Митотическая активность клеток аденогипофиза у отдельных крыс через 3 суток после операции. По оси абсцисс — серия опытов, по оси ординат — МК в ‰. Горизонтальными линиями показан уровень средней величины.

менее 14 000. Митотический коэффициент (МК) высчитывался в промилле. Количественные данные подвергались статистической обработке.

У интактных крыс митотический коэффициент эпителиальных клеток аденогипофиза составляет $0,32 \pm 0,06$ ‰ с колебаниями у отдельных животных от 0,12 до 0,50 ‰.

В первой серии опытов через 1 сутки после операции (двусторонняя энуклеация надпочечников) МК в аденогипофизе не отличается от контрольного показателя ($0,28 \pm 0,07$ ‰, $p > 0,6$). В дальнейшие сроки отмечается повышение пролиферативной активности аденогипофизарных клеток, достигающей максимума через 6 суток — 1,32 ‰ ($p < 0,01$). Эта величина превышает контрольный уровень МК в 4—5 раз. Через 12 и 30 суток после операции МК находится опять на контрольном уровне, составляя соответственно $0,24 \pm 0,03$ ‰ ($p > 0,2$) и $0,31 \pm 0,06$ ‰ ($p > 0,9$).

Данные о митотической активности клеток аденогипофиза в сроки от 3 до 12 суток после операции показаны графически на рис. 1, 2 и 3. Видно, что у отдельных животных одного и того же срока величины МК колеблются в довольно широких пределах. Несмотря на это, повышение МК в аденогипофизе через 6 суток

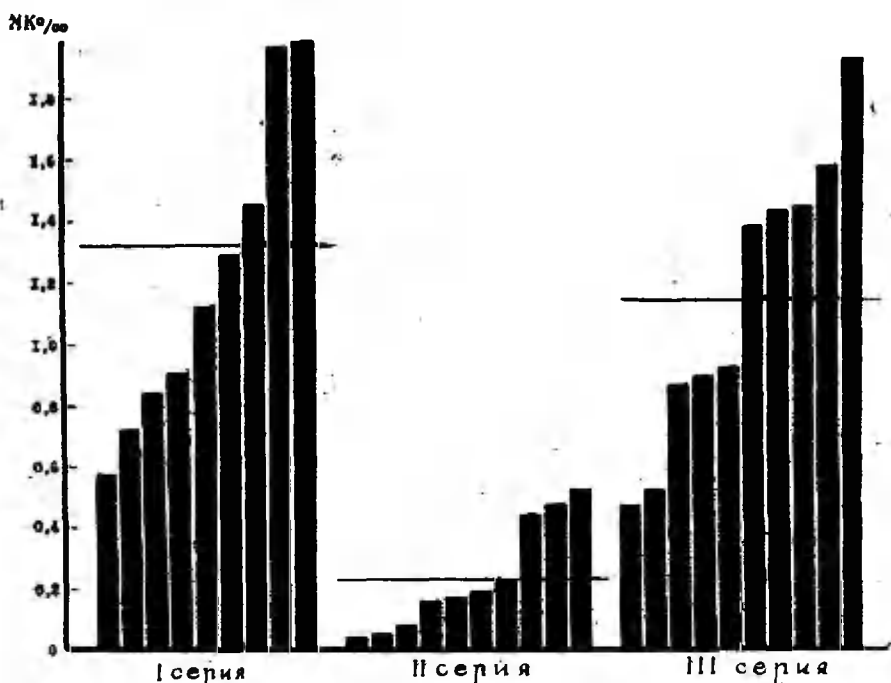


Рис. 2. Митотическая активность клеток аденогипофиза у отдельных крыс через 6 суток после операции.
По оси абсцисс — серия опытов, по оси ординат — МК в ‰.

после двусторонней энуклеации надпочечников является совершенно достоверным. Объясняется такое изменение митотической активности, по-видимому, понижением содержания кортикостероидов в крови после удаления значительной части коры надпочечников. С этим обстоятельством может быть связана, по принципу обратной связи, стимуляция не только функции, но и пролиферативных процессов в аденогипофизе. По мере восстановления структуры и функции коркового вещества указанная стимуляция ослабевает, и, следовательно, МК в аденогипофизе возвращается к нормальному уровню.

Во второй серии опытов во все сроки после операции (нанесение раны печени от прижигания) показатели МК находятся практически в пределах нормы (табл., рис. 1, 2, 3). Соответствующие средние величины МК для отдельных сроков колеблются от $0,20 \pm 0,05 ‰$ (через 1 сутки) до $0,32 \pm 0,05 ‰$ (через 3 суток после операции). Следовательно, наличие раны в печени никак не влияет на митотическую активность аденогипофизарных клеток.

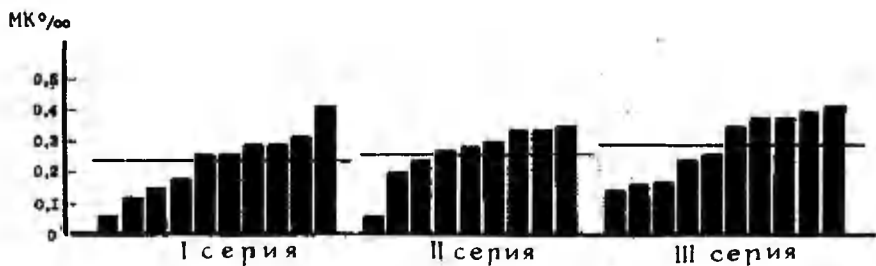


Рис. 3. Митотическая активность клеток аденогипофиза у отдельных крыс через 12 суток после операции.
По оси абсцисс — серия опытов, по оси ординат — МК в ‰.

В третьей серии опытов, т. е. в условиях комбинированного повреждения надпочечников и печени, изменения МК в аденогипофизе весьма сходны с изменениями МК в первой серии (табл., рис. 1, 2, 3). Так, через 3 и 6 суток после операции имеет место повышение митотической активности клеток аденогипофиза, причем показатели МК достигают соответственно $0,79 \pm$

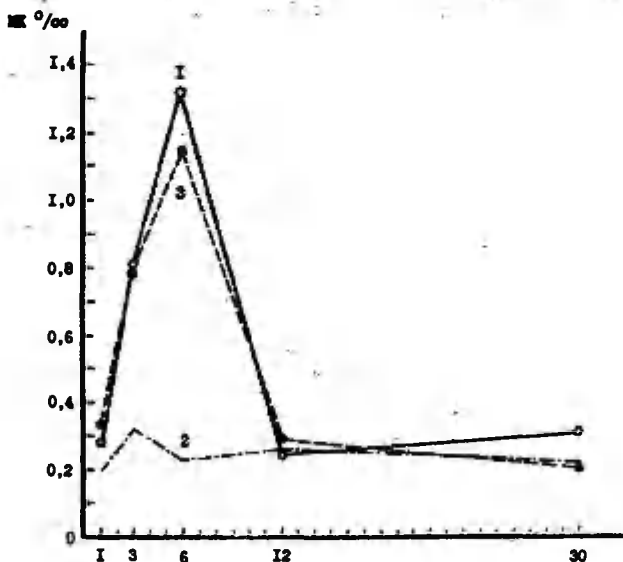


Рис. 4. Митотическая активность клеток аденогипофиза в различных сериях опытов.
1 — I серия, 2 — II серия, 3 — III серия опытов.
По оси абсцисс — дни после операции, по оси ординат — МК в ‰.

$\pm 0,11\%$ ($p > 0,1$) и $1,14 \pm 0,15\%$ ($p < 0,02$). Эти величины практически совпадают с соответствующими показателями МК в эти же сроки для I серии — $0,81 \pm 0,12\%$ ($p > 0,9$) и $1,32 \pm 0,19\%$ ($p > 0,4$). В более поздние сроки, однако, показатели митотической активности клеток аденогипофиза в III серии опытов не отличаются от контрольных показателей МК, составляя $0,29 \pm 0,03\%$ ($p > 0,7$) через 12 и $0,21 \pm 0,02\%$ ($p > 0,5$) — через 30 суток после операции.

На рисунке 4 сопоставлены кривые динамики митотической активности клеток аденогипофиза во всех трех сериях опытов. Видно, что в I и III сериях кривые МК совпадают, а во II — все точки кривой МК находятся на контрольном уровне. Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы: 1) после значительного поражения (энуклеации) коры надпочечников отмечается реактивное повышение пролиферативной активности клеток аденогипофиза, которое, однако, имеет место лишь в ранние сроки после операции; 2) процесс регенерации в ране печени не оказывает влияния на митотическую активность клеток аденогипофиза ни самостоятельно, ни в комбинации с энуклеацией надпочечников.

ЛИТЕРАТУРА

1. Труупыльд А. Ю. В кн.: Актуальные вопросы судебной медицины и патологической анатомии. Мат. IV расшир. научно-практ. конф. судебных медиков и патологоанатомов Эст. ССР, Таллин, 1975, 65—68.
2. Труупыльд А. Ю. В кн.: Проблема регенерации патологически измененных органов и обратимости патологических изменений. Горький, 1975, 287—290.
3. Evans, G. *Am. J. Physiol.*, 114, 2, 297—308, 1936.
4. Goluboff, L. G., Mac Rae, M. E., Ezrin, C., Sellers, E. A. *Endocrinology*, 87, 6, 1113—1118, 1970.
5. Gosbee, J. L., Kraicer, J., Kastin, A. J., Schally, A. V. *Endocrinology*, 86, 3, 560—567, 1970.
6. Messier, B. *Acta endocr. (Kbh)*, 61, 1, 133—136, 1969.
7. Sano, M., Sasaki, F. *J. Endocrin.*, 50, 4, 705—706, 1971.
8. Städtler, F., Stöcker, E., Dhom, G., Tietze, H. U. *Acta endocr. (Kbh)*, 64, 2, 324—338, 1970.

ON MITOTIC ACTIVITY OF CELLS IN THE ADENOHYPHYSIS IN CONDITIONS OF ADRENAL AND HEPATIC INJURIES

A. Truupõld, T. Truupõld, U. Arend

Summary

Mitotic activity was studied in the adenohypophysis of rats 1, 3, 6, 12 and 30 days following bilateral enucleation of the adrenals and a thermic liver wound separately or simultaneously. A 5-fold increase in mitotic index was found 6 days after the enucleation of the adrenals in rats with or without a liver wound. On the other hand, the proliferative activity of cells in the anterior lobe of the hypophysis was not responsible for the liver wound in rats with or without damage of the adrenals.

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ ТИМУСА И ИЗВИТЫХ КАНАЛЬЦЕВ СЕМЕННИКА БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ПОВРЕЖДЕНИИ НАДПОЧЕЧНИКОВ И ПЕЧЕНИ

Ю. П. Хуссар, У. Я. Подар, Ю. Э. Аренд и А. Ю. Труупыльд

Кафедра гистологии ТГУ.
Кафедра патологической анатомии ТГУ

Лимфоидная ткань тимуса и сперматогенный эпителий характеризуются высокой чувствительностью к воздействию внешних факторов. Тимолимфоциты повреждаются даже и при удалении периферических лимфоидных органов [2, 3, 4]. Хорошо известна высокая стероидочувствительность тимолимфоцитов [5]. Наиболее чувствительной тканью является, однако, сперматогенный эпителий извитых канальцев семенника [1, 6].

Целью настоящей работы и является изучение гистологических изменений этих двух видов чувствительных и высокореактивных тканей крысы при повреждении надпочечников и печени.

Материал и методика. Опыты были поставлены на 136 взрослых белых крысах-самцах средним весом 190—210 г, которые были разделены на 4 группы: I — контроль (5); II — двусторонняя энуклеация надпочечников (44); III — прижигание печени (44) и IV — двусторонняя энуклеация надпочечников наряду с повреждением печени (43 животных). Повреждение надпочечников производилось А. Ю. Труупыльдом и повреждение печени — Ю. Э. Арендом. Животные забивались в одни и те же часы через 1, 3, 6, 12, и 30 суток после повреждений. При вскрытии обнаружено, что в большинстве случаев животные были заражены спонтанными лабораторными инфекциями. Наблюдались очаги в печени, характерные кокцидиозу. Материал (тимус и семенники) фиксировали по Максиму или Карнуа. Вес тимуса определяли после фиксирования. Парафиновые срезы тимуса и целлоидиновые срезы семенника толщиной 7 и 10 мк окрашивались гематоксилином и эозином, азур II — эозином, железным

гематоксилином по Гейденгайну, по ван Гизону и по Фельгену; на семеннике производилась и ШИК-реакция. Для анализа препаратов использовали микроскопы МБИ-6 и МБИ-1; подсчеты проводились при иммерсионном увеличении (об. 90, ок. $10 \times 1,5$ — бинокляр). В тимусе производился подсчет количества лимфоцитов в корковом и мозговом веществе долек на условную единицу площади $12\,800\text{ мк}^2$ и вычислялся митотический коэффициент (МК — количество митозов на 1 000 клеток). В семенниках исследовали изменения эпителия извитых канальцев (100 канальцев у каждого животного) и определяли индекс повреждения (тяжесть повреждения — от слабых изменений сперматогенного эпителия до полного его разрушения — и количество поврежденных канальцев на 100 канальцев).

Полученные цифровые данные обрабатывались при помощи микрокалькулятора «Электроника» БЗ-18-А и японского мини-компьютера «Сапон» Palmtronic и подвергались стандартной вариационно-статистической обработке.

Результаты опытов. При повреждении надпочечников и печени вес животных существенно не изменяется (табл. 1, 2, 3); при

Т а б л и ц а 1

Изменения веса тела и тимуса у белых крыс при двусторонней энуклеации надпочечников

Сутки	Кол-во животных	Вес тела (в г)	Вес тимуса (в мг)
1	5	203 ± 14	173 ± 18
3	10	216 ± 11	281 ± 34
6	10	199 ± 9	272 ± 26
12	10	199 ± 12	290 ± 33
30	9	205 ± 11	187 ± 34
Контроль:	5	195 ± 14	180 ± 20

Т а б л и ц а 2

Изменения веса тела и тимуса у белых крыс при повреждении печени

Сутки	Кол-во животных	Вес тела (в г)	Вес тимуса (в мг)
1	5	159 ± 14	156 ± 44
3	10	150 ± 13	139 ± 17
6	10	173 ± 9	132 ± 24
12	9	177 ± 14	139 ± 17
30	10	190 ± 13	178 ± 23
Контроль:	5	195 ± 14	180 ± 20

Изменения веса тела и тимуса у белых крыс при повреждении надпочечников и печени

Сутки	Кол-во животных	Вес тела (в г)	Вес тимуса (в мг)
1	5	226± 8	288±22
3	10	206±10	286±22
6	10	183± 6	267±31
12	9	196±12	278±35
30	9	211±13	158±11
Контроль:	5	195±14	180±20

повреждении же надпочечников (табл. 1 и 3) вес тимуса повышается ($p < 0,05$) и восстанавливается лишь к концу исследованных сроков (30 суток).

Во всех сериях опытов наблюдается весьма гетерогенная картина гистологических изменений лимфоидной ткани долек тимуса (рис. 1А—Е). В одних случаях отмечается картина гиперплазии лимфоидной ткани (количество лимфоцитов в поле зрения высокое, корковое вещество занимает почти всю дольку, вытесняя мозговое); в других же случаях, наоборот, отмечается картина атрофии долек вплоть до инверсии и развивающейся инволюции тимуса. Увеличение количества лимфоцитов в большинстве случаев наблюдается в сериях с повреждением надпочечников. При энуклеации надпочечников, кроме того, наблюдается выраженный полиморфизм ядер, а также дегенеративные и деструктивные изменения лимфоидных клеток (краевой гиперхроматоз, набухание, пикноз, распад). В отдельных случаях появляются секвестры, скопления погибших лимфоцитов в корковом и даже мозговом веществе долек. Появляются светлые (реактивные) центры в коре долек (рис. 1Б). Расширяется паракортикальная (Т-клеточная) зона перитимического медиастинального лимфатического узла (рис. 1В).

При гипоплазии долек тимуса наиболее характерной является плазматизация лимфоидных клеток на границе между корковым и мозговым веществом и вокруг мелких кровеносных сосудов (рис. 1Г), в мозговом веществе развиваются железистые структуры и гигантские тельца Гассала (рис. 1Д).

Через 3—12 суток после двусторонней энуклеации надпочечника вес тимуса и количество лимфоцитов коры долек на условную единицу площади увеличиваются (табл. 4). В эти же сроки падает митотическая активность тимолимфоцитов (табл. 5). В некоторых случаях МК равняется к нулю. Через 30 суток показатели эти не отличаются от контроля. Во всех случаях отмечается

Т а б л и ц а 4

Изменения количества лимфоцитов на условную единицу площади 12 800 мк² в корковом (I) и мозговом веществе (II) долек тимуса у белых крыс при повреждении надпочечников и печени

Сутки	I	II
Двусторонняя энуклеация надпочечников:		
6	352 ± 10	164 ± 9
12	343 ± 8	137 ± 7
30	310 ± 11	138 ± 6
Рана печени:		
6	289 ± 25	129 ± 12
12	248 ± 26	134 ± 9
30	305 ± 12	137 ± 6
Энуклеация надпочечников и повреждение печени:		
6	354 ± 13	174 ± 10
12	345 ± 15	145 ± 10
30	312 ± 28	133 ± 11
Контроль:	296 ± 13	152 ± 10

Т а б л и ц а 5

Изменения митотической активности лимфоидных клеток коркового (I) и мозгового вещества (II) долек тимуса у белых крыс при повреждении надпочечников и печени

Сутки	I	II
Двусторонняя энуклеация надпочечников:		
6	1,02 ± 0,20	0,75 ± 0,18
12	0,80 ± 0,24	0,63 ± 0,11
30	1,35 ± 0,35	0,93 ± 0,30
Рана печени:		
6	1,87 ± 0,41	1,33 ± 0,36
12	4,67 ± 0,60	3,07 ± 0,47
30	2,57 ± 0,59	1,67 ± 0,34
Энуклеация надпочечников и повреждение печени:		
6	1,17 ± 0,32	1,00 ± 0,28
12	1,04 ± 0,47	0,97 ± 0,37
30	2,53 ± 0,57	2,03 ± 0,45
Контроль:	2,60 ± 0,50	1,83 ± 0,33

гетерогенная картина изменений, особенно изменений митотической активности корковых тимолимфоцитов (МК колеблется в пределах от 0 до 2—3). Квадратичные отклонения от средней

арифметической чрезвычайно велики. Через 6 суток после энуклеации надпочечников и прижигания печени МК корковых тимолимфоцитов равняется $1,17 \pm 0,32$, и через 12 суток — $1,04 \pm 0,47$ (!). Стандартная ошибка превышает доверительные границы. В результате этого абсолютные показатели МК становятся малоубедительными.

Через 12 суток после повреждения печени увеличивается митотическая активность корковых тимолимфоцитов. Также наблюдается большой разброс цифр в одной и той же экспериментальной группе (в 6-суточной группе, например, МК колеблется от 0,5 до 3).

Как уже говорилось, сперматогенный эпителий отличается чрезвычайно высокой чувствительностью к воздействию внешних факторов. Эта закономерность выявлена и в настоящих исследованиях. Даже в контрольной группе без повреждения надпочечников и печени на фоне спонтанного заражения животных лабораторными инфекциями в большинстве случаев отмечаются выраженные альтеративные изменения извитых канальцев семенника. Более однородные изменения после повреждения надпочечников и печени наблюдаются в тех случаях, когда индекс повреждения минимален. Например, в первые сутки после повреждения печени увеличивается частота альтеративных изменений сперматид, в то время как одна двусторонняя энуклеация надпочечников не оказывает существенного влияния на состояние этих клеток. Изменения сперматидного слоя выразились в суживании в просвет и некробозе клеток, в утончении этого слоя, иногда в формировании гигантских клеток (рис. 2).

Сравнительный анализ изменений тимолимфоцитов и клеток сперматогенного эпителия показывает, что эти группы клеток отличаются высокой чувствительностью к воздействию внешних факторов. Это, по-видимому, объясняется слабой их дифференцировкой, сохранением свойств камбиальности. В связи с этим можно ставить и очень интересный вопрос об определении степени сохранности в корковых тимолимфоцитах и клетках сперматогенного эпителия потенций и свойств примитивных, стволовых клеток.

Заключение. Повреждение надпочечников и печени производилось на 136 взрослых белых крысах-самцах, зараженных спонтанно лабораторными инфекциями. Исследования производились обычными гистологическими методами.

Установлено, что во всех сериях опытов развивается гетерогенная картина гистологических изменений лимфоидной ткани тимуса и извитых канальцев семенника. В тимусе в одних случаях наблюдается гиперплазия лимфоидной ткани, в других же — резкая атрофия долек и инволюция органа. В части случаев появляются реактивные центры в коре долек и гигантские тельца Гассалья в мозговом веществе. При двусторонней энуклеа-

ции надпочечников увеличивается вес тимуса и количество лимфоцитов, падает их митотическая активность.

Патологические изменения более всего выражены в извитых канальцах семенника, даже в контрольной (спонтанно зараженной) группе. Поэтому невозможно и выявление сколько-нибудь закономерных альтеративных изменений в канальцах. При условиях искусственного выбора, т. н. менее пораженной группы животных, можно сказать, что повреждение печени вызывает известное увеличение частоты поражаемости сперматид.

ЛИТЕРАТУРА

1. Райцина С. С. Травма семенника и аутоиммунитет. М., 1970.
2. Фонталин Л. Н. Иммунологическая реактивность лимфоидных органов и клеток. Л., «Медицина», 1967.
3. Харлова Г. В. Регенерация лимфоидных органов у млекопитающих. М., «Медицина», 1975.
4. Хуссар Ю. П. Количественный экспериментально-гистологический анализ лимфоидной ткани в норме и при радиационном поражении. Дисс. докт. мед. наук. Тарту, 1972.
5. Dougherty, T. F. Adrenal cortical control of lymphatic tissue mass. In: *The Kinetics of Cellular Proliferation*. Ed. by F. Stohman. Crune a. Stratton, Inc. New York, 1959, 264—277.
6. Stieve, H. *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*. Bd. 7, T. 2. Berlin, 1930.

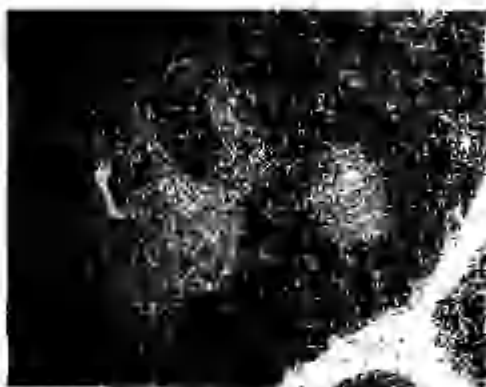
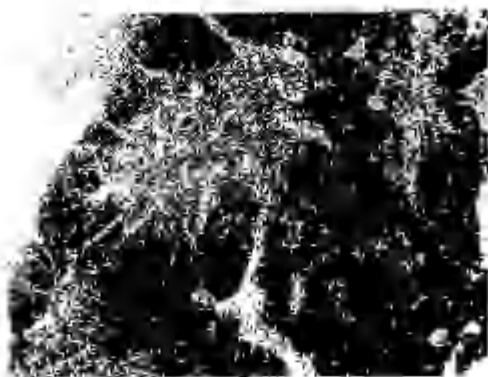
HISTOLOGICAL CHANGES OF THE LYMPHOID TISSUE OF THE THYMUS AND GERMINAL EPITHELIUM OF THE TESTIS IN MALE RATS AFTER INJURING THE ADRENAL GLAND AND LIVER

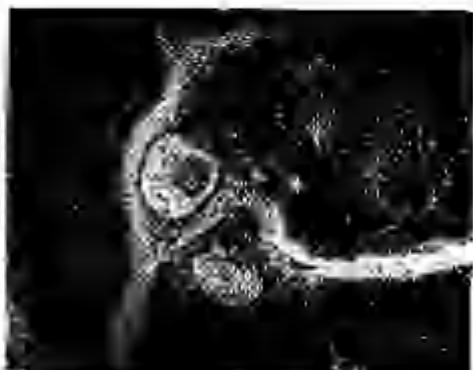
U. Hussar, U. Podar, U. Arend and A. Truupõld

Summary

The changes in the histological picture of the thymus and testis after an injury of the adrenal gland and liver were investigated in 136 adult male rats. The animals were killed after 1 to 30 days following the injury. Routine histological treatment was performed.

Heterogenous data of histological changes were found in all series of the experiment. It has been indicated that in all series there is a varied picture of the histological changes of the thymus lymphoid tissue (hyperplasia, hypoplasia, plasmatisation of the lymphocytes etc.). However, the bilateral enucleation of the adrenal glands increases the weight of the thymus and the amount of thymolymphocytes; the mitotic activity is somewhat increased. In the contorted tubuli of the testis manifested alterative changes not correlated with the injury of the adrenal glands and liver were found regardless of the duration of the experiment.





и с. 1. Гистологические изменения лимфондной ткани долек тимуса у крысы при двусторонней энуклеации надпочечников.

Секвестр в мозговом веществе и светлый центр в корковом (Б); расширение паракортикальной зоны медиастинального, перитимического лимфатического узла (В); интенсивная общая плазмоцитарная реакция на границе между корковым и мозговым веществом долек и вокруг кровеносных сосудов (Г); гигантские тельца Гассала (Д) и полиморфизм долек тимуса (Е).

А — контроль; Б—Д — через 12 и Е — 30 суток после повреждения надпочечников.

Азур II-эозин. $\times 92$.

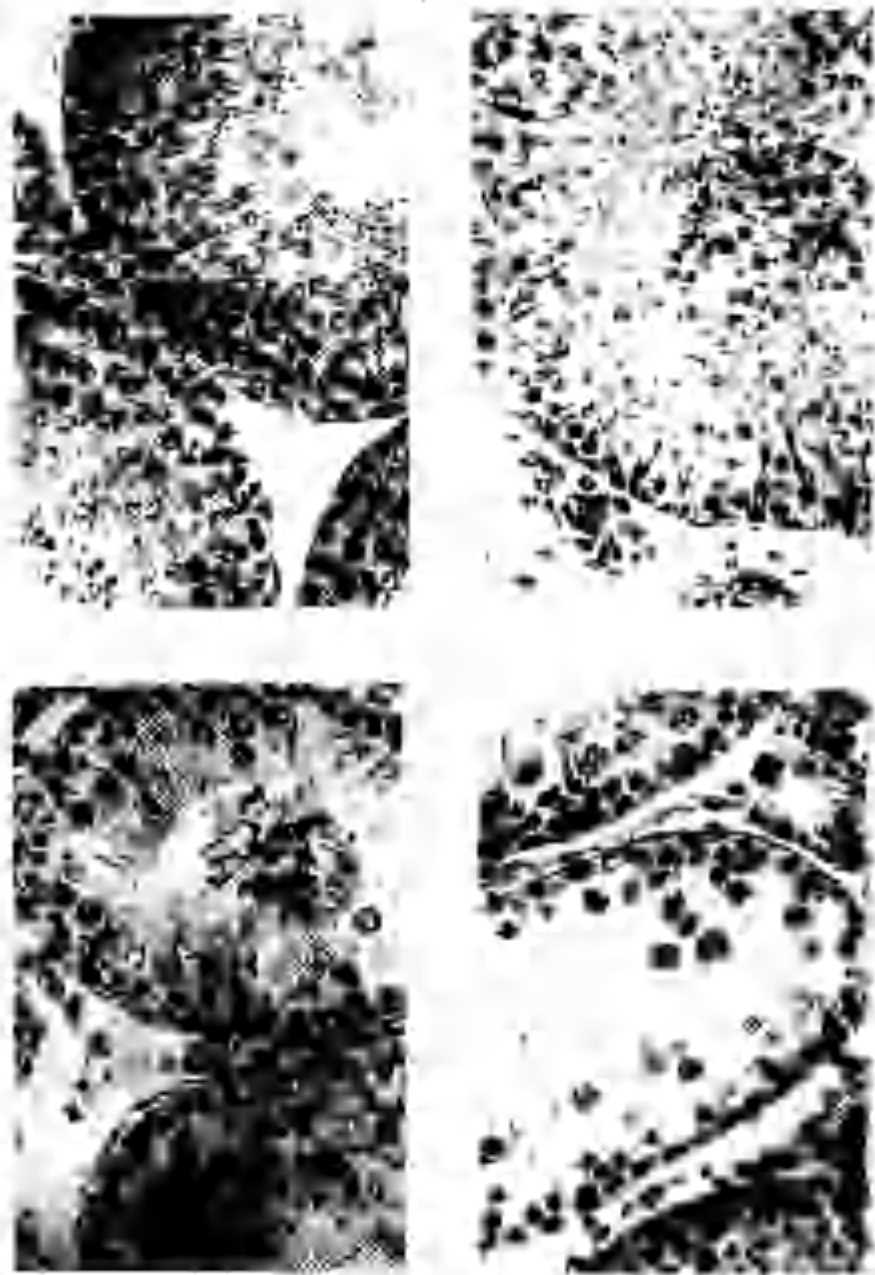


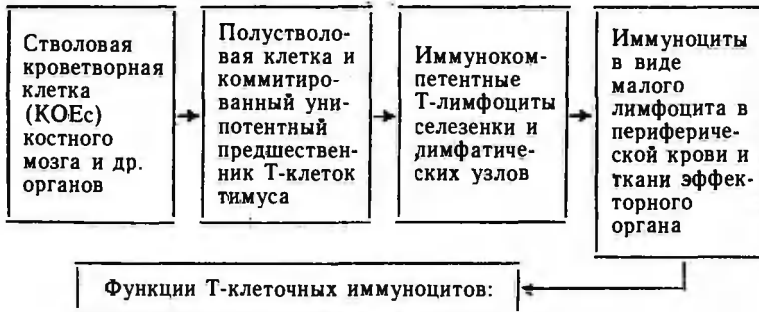
Рис. 2. Основные типы найденных изменений извитых канальцев семенника через 6 суток после энуклеации надпочечников.
 А — нормальное состояние (ранняя стадия цикла сперматогенеза); Б — слущивание клеток сперматогенного эпителия в просвет канальца (ранняя стадия сперматогенеза); В — слущивание клеток в просвет (поздняя стадия сперматогенеза); Г — более тяжелое поражение — отсутствие сперматидов (стадия цикла на определенне).
 Ван Гизон. $\times 270$.

К ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКОМУ ИЗУЧЕНИЮ Т-КЛЕТОЧНОЙ ЗАЩИТНОЙ СИСТЕМЫ У МЫШЕЙ. I. МЕТОД КОЖНОГО ТЕСТА В ИССЛЕДОВАНИИ РЕАКЦИИ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЗАМЕДЛЕННОГО ТИПА (ГЗТ)

М. Каартинен и Ю. П. Хуссар

Кафедра серологии и бактериологии Хельсинкского университета.
Кафедра гистологии Тартуского государственного университета

В последнее время иммунологами всего мира ведутся поиски новых и совершенствуются старые методы изучения разных вопросов трансплантационного иммунитета. До сих пор все же нет достаточно точного и надежного метода исследования. Это объясняется по крайней мере двумя причинами: 1) гетерогенностью



- развитие реакции ГЗТ;
- отторжение трансплантата;
- подавление развития опухолей;
- развитие реакции «трансплантат против хозяина».

Рис. 1. Последовательные этапы дифференцировки Т-лимфоидных клеток по стволовой линии: от колониобразующей единицы (КОЕс) до зрелого иммуноцита, участвующего в различных реакциях Т-клеточного (трансплантационного) иммунитета.

морфофункциональной картины при иммунизации и 2) высокой специфичностью иммунологических реакций.

Как хорошо известно, морфофункциональные изменения защитной системы организма, связанные с иммунологическими расстройствами Т-клеточной системы вплоть до развития иммунодефицитного состояния, весьма разнообразны, и выражаются в развитии реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), в реакции отторжения гомотрансплантата и т. д. (рис. 1).

Из всех реакций, развивающихся при этом, наиболее четкой является реакция местной активации мононуклеаров после вторичного внутрикожного введения антигена в реакциях ГЗТ. Морфофункциональные изменения клеток подвергаются строгому количественному анализу. Количество иммуноцитов-киллеров в ткани определяется хромосомными (генетическими), изотопными и другими маркерами; функциональная же активность этих клеток определяется радиометрически, гистоавтордиографически, иммунологически (бласт-трансформация, розетообразование, подавление подвижности макрофагов и др.). Все это необходимо учитывать при выборе метода конкретных исследований реакции ГЗТ.

Выбор метода. В наш взгляд, наиболее подходящим и широко применяемым методом экспериментального изучения реакции ГЗТ у мышей является разработанный Миллером и соавт. [11, 12] метод кожного теста с последующей радиометрической обработкой материала. При применении данного метода вторичная доза антигена вводится внутрикожно в кожу уха животного. Одно (левое) ухо является «экспериментальным» (введение антигена), а другое (правое) — «контрольным» (введение физиологического раствора или же некомпетентного антигена). Метод кожного теста в сочетании с радиометрией, а также с гистоавтордиографией относительно несложен и применим даже во всех неиммунологических (в частности морфологических) лабораториях. Полученные результаты объективно и в высшей степени достоверно отражают специфические иммуноморфологические изменения Т-клеточной системы при реакции ГЗТ [11, 12].

В первое время использования кожного теста достаточным критерием положительной реакции ГЗТ считали развитие эритемы и индукцию кожи на месте введения вторичной дозы антигена [3, 7, 8, 9, 10]. В настоящее же время используются точные критерии количественной оценки местной реакции ГЗТ: автордиографическое и гистоавтордиографическое измерение клеточной реакции с применением радиоактивного 5-йодо-2-деоксиуридина ($^{125}\text{I-UdR}$) и тритированного тимидина ($^3\text{H-TdR}$) [4, 6, 11, 12, 13, 14, 15]. В одной из этих работ [15] подчеркивается перспективность применения ^3H -тимидина в исследованиях реакции ГЗТ (простой способ подкожного и внутрибрюшинного введения, равномерное распределение по всей лимфоидной системе, четкое

включение метки в синтезирующие ДНК ядра клеток на гистоавторадиографах и т. д.). Недостатком метода является включение ^3H -тимидина не только в клетки, но и в эдематоэную жидкость. Поэтому метод не пригоден в одних лишь радиометрических исследованиях, без гистоавторадиографического исследования материала [11, 12].

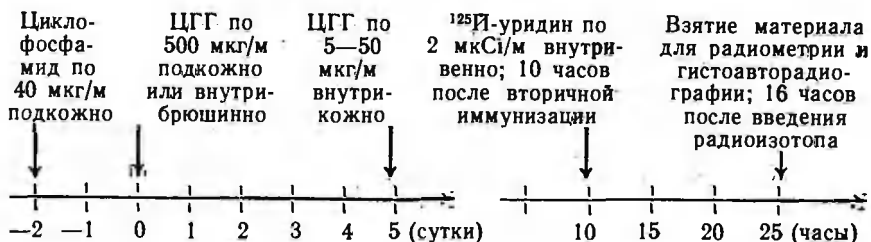
Выбор антигена. Антигеном может быть любое вещество, которое вызывает преимущественно Т-клеточную реакцию (ВСГ и др.). В иммунологических и иммуногенетических исследованиях часто используются не отдельные препараты, а целые группы антигенов вместе с известными гаптенами-носителями. В результате применения этих веществ всегда развивается и гуморальный и трансплантационный иммунитет. Таким образом, полученные результаты позволяют по интенсивности реакции различных иммуноцитов сделать определенные выводы о локусах генома, ответственных за синтез специфических рецепторов Т- и В-клеток.

На кафедре серологии и бактериологии Хельсинкского университета под руководством профессора Олли Мякеля в течение многих лет успешно применяется в иммуногенетических исследованиях лимфоидной системы семейство гаптен АВА в сочетании с различными протеинами и липидами. При этом в основном исследовалась В-клеточная система. До сих пор все еще мало работ, относящихся к сравнительному изучению Т- и В-клеточного иммунитета. Поэтому на кафедре серологии и бактериологии Хельсинкского университета нами проводились исследования реакции ГЗТ с применением целого ряда гаптенных конъюгатов протеинов и липидов, хорошо известных по своему воздействию на В-клеточную систему. Более подробно результаты опытов приведены в специальной работе [1]. В данной методической работе приведены в качестве примера результаты лишь одной серии опытов — изучение реакции ГЗТ при внутрикожном введении мышам птичьего гамма-глобулина.

Постановка цели. Основной целью настоящего исследования и является обработка и усвоение простого и в то же время высокоспецифичного кожного теста определения интенсивности и характера реакции гиперчувствительности замедленного типа при применении определенных несингенных антигенов (в данном случае мышам вводили цыплячий гамма-глобулин — ЦГГ). Сделана попытка обработки методом, применяемым даже и в неспециализированных (неиммунологических) лабораториях при изучении специфической (иммунологической) функции Т-лимфоцитов. Проведение этих исследований в заданных целях предложено профессором О. Мякелем.

Примерная схема проведения опытов (материал и методика). Опыты были поставлены на 36 половозрелых мышах-самцах линии СВА и (СВА × С₅₇В1) · F₁ средним весом 20 г. Во всех сериях

опытов был применен метод кожного теста с последующей радиометрической обработкой. Опыты проводились по следующей схеме:



В каждой группе животных за 2 суток до введения антигена подкожно вводили циклофосфамид по 40 мкг/мышь. Циклофосфамид в средних дозах и при оптимальной иммунизации соответствующими дозами антигена подавляет раннюю полинуклеарную лейкоцитарную реакцию в тканях и таким образом способствует выявлению моноклеарной Т-клеточной реакции [2, 5].

Иммунизация-«прайминг» производилась следующим образом: 1) в 1-ой группе опытов ЦГГ вводили в дозе 500 мкг/мышь подкожно или внутрибрюшинно; 2) во 2-ой группе ЦГГ вводили внутрибрюшинно в дозе 500 мкг/мышь вместе с 2×10^9 ослабленных организмов пертуссиса; 3) в 3-ей группе — глобулин в названной дозе подкожно в кожу лапы в полном адьюванте Фрейнда; в соответствующем контроле «прайминг» не производили; вторичной дозой являлся ЦГГ или бычий сывороточный альбумин; 4) в 4-ой группе внутрибрюшинно вводили пневмококковый полисахарид III по 0,1 (10 мкг) на мышь.

Через 5 суток после «прайминга» животные получили вторичную дозу антигена внутрикожно в середину внутренней поверхности левого уха. В правое ухо вводили физиологический раствор. В первых 3-х группах использовали ЦГГ интрадермально в дозах 5, 10, 20, 40 и 50 мкг/мышь. В последней группе использовали в части случаев среднюю дозу гамма-глобулина (20 мкг/мышь), а в части случаев — пневмококковый полисахарид III.

Эффект развития реакции ГЗТ оценивали авторадиографически (радиометрически) изотопом ¹²⁵I-уридина. Изотоп вводили внутривенно в хвостовую вену по 2 мкСi/мышь через 10 часов после вторичной иммунизации. За это время интенсивность синтеза ДНК в Т-клетках очага кожной реакции (места введения антигена) достигает максимума. Через 16 часов животные забивались, и радиометрически на аппарате «Валлак» определяли количество импульсов радиоактивного ¹²⁵I-уридина в тканях левого и правого (контрольного) уха. «Валлак» — относительно

новый прибор, позволяющий автоматически зарегистрировать активность синтеза ДНК (по количеству импульсов) в исследуемом материале. Статистическая обработка производилась при помощи стандартного лабораторного миникомпьютера фирмы «Канон».

Результаты опытов. В 1—3 группах опытов (за исключением контрольных подгрупп) развивалась хорошо выраженная реакция типа ГЗТ. Наиболее выраженная реакция отмечалась в 3-ей группе (табл. 1). В этой группе гамма-глобулин вводился вместе с полным адьювантом Фрейнда и вторичная доза равнялась 20 мкг/мышь. Резко увеличивалась активность включения йодированного радиоактивного уридина в Т-лимфоидные клетки. В 4-ой группе никакой кожной реакции после введения пневмококкового полисахарида не развивалось. В первых 3-х группах положительная реакция ГЗТ выражалась в эритематозности и

Таблица 1

Радиометрическое определение ^{125}I -уридином развития реакции ГЗТ на кожном тесте

3-я группа опытов:

- | | |
|--|---|
| 1. 1° («спрайминг») — ЦГГ
500 мкг/мышь
подкожно (п. к.) | 3. 1° — нет |
| 2° (вторичное введение) — ЦГГ
20 мкг/мышь внутрикожно
(вн. к.) | 2° — бычий сывороточный альбумин (БСА) вн. к. |

№ п/п	Левое ухо		№ п/п	Правое ухо	
	л. у.	п. у.		л. у.	п. у.
1.	2301*	1167	1.	1029	894
2.	2178	1140	2.	544	810
3.	2736	1285	3.	1053	1542
4.	1827	1048	4.	625	765
	<hr/>	<hr/>	5.	667	693
	2272	1160		<hr/>	<hr/>
				785	986

$T=6,000;$
 $p<0,001;$

- | | |
|--------------------------------|-----------------------------|
| 2. 1° — ЦГГ 500 мкг/мышь п. к. | 4. 1° — нет |
| 2° — ЦГГ 40 мкг/мышь вн. к. | 2° — ЦГГ 40 мкг/мышь вн. к. |

№ п/п	Левое ухо		№ п/п	Правое ухо	
	л. у.	п. у.		л. у.	п. у.
1.	2585	670	1.	806	789
2.	1719	1025	2.	718	744
3.	2699	898	3.	806	861
	<hr/>	<hr/>	4.	738	788
	2334	864		<hr/>	<hr/>
				767	790

$T=4,51;$
 $p<0,01$

* Количество импульсов ^{125}I -уридина на 1000 секунд.

набухании кожи и подкожной клетчатки, и особенно в увеличении интенсивности синтеза ДНК в иммунных Т-клетках, перешедших в очаг поражения и интенсивно пролиферирующих на месте.

Заключение. На 36 половозрелых мышах-самцах СВА и гибридах СВА×С₅₇В1 исследовалось развитие реакции ГЗТ на повторное внутривенное введение ЦГГ. Использовался модифицированный нами кожный тест с последующей радиометрической обработкой материала ¹²⁵И-уридином. Полученные данные показывают, что этот метод высокочувствителен (даже при малейших дозах вторичного введения антигена), объективен (одновременное исследование и «подопытного», и «контрольного» уха одних и тех же животных) и убедителен (статистическая обработка полученных цифровых данных). Этот метод успешно применялся нами при изучении реакции ГЗТ, вызванной рядом протеиновых и липидных конъюгатов с гаптенами семейства АВА (см. выше).

Этот относительно простой и в то же время точный метод можно рекомендовать к применению при изучении реакции ГЗТ не только в иммунологических, но и в других (в том числе морфологических) кафедрах и лабораториях, занимающихся изучением Т-клеточной защитной системы организма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хуссар Ю. П. и Каартинен М. К иммуноморфологическому изучению Т-клеточной защитной системы у мышей. II. Применение препаратов семейства РАТ и некоторых липидных конъюгатов в изучении реакции гиперчувствительности замедленного типа (предварительное сообщение). Уч. зап. Тартуского гос. ун-та (в печати).
2. Askenase, P. W., Hayden, B. J. a. Gershon, R. K. Augmentation of Delayed-Type Hypersensitivity by Doses of Cyclophosphamide Which do not Affect Antibody Responses. *J. Exp. Med.*, 1975, 141, 3, 697—702.
3. Becker, M. J., Levin, H. a. Sela, M. The specificity of cellular immunity: studies in guinea pigs using defined tetrapeptides containing p-azobenzene-arsenate-L-tyrosine. *Eur. J. Immunol.*, 1973, 3, 131—136.
4. Crum, E. D. a. McGregor, D. D. Induction of delayed-type hypersensitivity with BCG-associated proteins. *Immunol.*, 1976, 30, 497—504.
5. Hunninghake, G. W. a. Fauci, A. S. Quantitative and qualitative effects of cyclophosphamide administration on circulating polymorphonuclear leucocytes. *Immunol.*, 1976, 139—144.
6. Lefford, M. J. The measurement of tuberculin hypersensitivity in rats. *Int. Arch. Allergy*, 1974, 47, 570—585.
7. Leskowitz, S. Use of Oxidized Proteins in the Examination of Immunochemical Specificity in Delayed Hypersensitivity to Hapten-Protein Conjugates. *Nature*, 1963a, 199, 4888, 85—86.
8. Leskowitz, S. Delayed Hypersensitivity to a Conjugate of Polytyrosine and its Inhibition by Haptens. *Nature*, 1963b, 199, 4890, 291—292.
9. Leskowitz, S. a. Jones, V. E. Immunochemical Study of Antigenic Specificity in Delayed Hypersensitivity. III. Suppression of Hapten-Specific Delayed Hypersensitivity by Conjugate of Varying Size. *J. Immunol.*, 1965, 95, 2, 331—335.
10. Leskowitz, S., Jones, V. E. a. Zak, S. J. Immunochemical Study of Antigenic Specificity in Delayed Hypersensitivity. V. Immunization with

Monovalent Low Molecular Weight Conjugates. *J. Exp. Med.*, 1966, 123, 229—237.

11. Miller, J. F. A. P., Vadas, M. A., Whitelaw, A. a. Gamble, J. A Radioisotopic Method to Measure Delayed Type Hypersensitivity in the Mouse. II. Cell Transfer Studies. *Int. Arch. Allergy appl. Immun.*, 1975a, 49, 693—708.
12. Miller, J. F. A. P., Vadas, M. A., Whitelaw, A. a. Gamble, J. H-2 gene complex restricts transfer of delayed-type hypersensitivity in mice. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1975b, 72, 12, 5095—5098.
13. Mäkelä, O. Research Project (Brief communication), 1975, p. 8.
14. Sabolovic, D., Beugnot, M.-C., Dumont, F. a. Bujadoux, M. A new method to measure the specific cellular component of a delayed hypersensitivity response in the ear of the mouse. *Eur. J. Immunol.*, 1972, 2, 604—606.
15. Vadas, M. A., Miller, J. F. A. P., Gamble, J. a. Whitelaw, A. A Radioisotopic Method to Measure Delayed Type Hypersensitivity in the Mouse. I. Studies in Sensitized and Normal Mice. *Int. Archs Allergy appl. Immun.*, 1975, 49, 670—692.

ON IMMUNOMORPHOLOGICAL INVESTIGATION OF CELL-MEDIATED IMMUNITY IN MICE. I. MODIFIED SKIN TEST AS A METHOD FOR INVESTIGATION OF THE DEVELOPMENT OF THE DELAYED-TYPE HYPERSENSITIVITY (DTH)

M. Kaartinen a. U. Hussar

Summary

The development of the DTH in 36 adult male mice has been investigated. The mice of strains CBA and (CBA×C₅₇BL). F₁ were used for sensitization. In this paper we have developed a skin test method with radioisotopic measurement of the activity of the DTH response. The method gives an objective measurement of the cellular activity in the lesions (Miller a. oth., 1975).

Mice were immunized to CGG (chicken immunoglobulin). The animals received 500 µg of the antigen intraperitoneally or subcutaneously in complete Freund's adjuvant. The "primed" animals were given 200 mg/kg of cyclophosphamide subcutaneously 2 days before sensitization.

The test antigen is injected 5 days after "priming" intradermally into the left pinna and either nothing or the same volume of a control solution into the right. 10 µl of the test antigen is injected (CGG in doses 5, 10, 20, 40 and 50 µg per mouse). In these experiments the optimal concentration is 20—40 µg per mouse.

10 h after the antigen administration an intravenous pulse of 0,1 µl containing 2 µCi of 5-iodo-2 deoxyuridine-¹²⁵I (¹²⁵I-UdR) was given into the tail vein. This is the highest dose shown not to be toxic to mouse cells. 16 h later the ears were cut off at the hairline

and the radioactivity was counted by means of a gamma spectrometer for 2 min in most experiments. In general the results were expressed as a ratio of the radioactivity in the left ear to that in the right ear, this being designated as L/R ^{125}I -UdR-uptake.

It can be concluded that the increased radioactivity of the left pinna over the right one showed the specificity of a DTH response. In brief, the skin test method is a highly specific method for the determination of DTH response (Miller a. oth., 1975) and sometimes a simple (not very complicated) method that can be recommended for using in non-immunological (e. g. morphological) laboratories.

**К ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКОМУ ИЗУЧЕНИЮ
Т-КЛЕТОЧНОЙ ЗАЩИТНОЙ СИСТЕМЫ У МЫШЕЙ.
II. ПРИМЕНЕНИЕ ПРЕПАРАТОВ СЕМЕЙСТВА R4T И
НЕКОТОРЫХ ЛИПИДНЫХ КОНЬЮГАТОВ В ИЗУЧЕНИИ
РЕАКЦИИ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ЗАМЕДЛЕННОГО
ТИПА (ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЕ СООБЩЕНИЕ)**

Ю. П. Хуссар и М. Каартинен

Кафедра анатомии и гистологии Тартуского государственного университета.
Кафедра серологии и бактериологии Хельсинкского университета

Современные иммунологические и иммуногенетические исследования иммунодефицитных состояний в эксперименте и патологии связаны с постоянным усовершенствованием и уточнением имеющихся методов исследования. В настоящее время все более развивается изучение генетических механизмов развития иммунитета (антигены и дерепрессия геномного локуса H-2, генетическая детерминация антигенных структур цитомембраны Т- и В-клеток и т. д.). Эти вопросы обсуждаются во всех обзорных изданиях [2, 3, 7, 13, 14]. Вновь стали актуальными исследования Ландштейнера, который впервые установил, что специфичность реакции антиген-антитело намного увеличивается и уточняется (подвергается количественному подсчету) при применении некоторых простых и известных химических соединений вместе с антигенами. Эти вещества назвали гаптенами. Против одних лишь гаптенных антигенной реакции нет; но стоит только связать гаптен с протеинами (протеидами) или липидами, то образуются антитела, высокоспецифические к гаптенам конъюгата. В конечном счете определенными (химически известными) гаптенами можно изучить иммунологическую активность и свойства целого ряда белковых и липидных конъюгатов и по интенсивности реакции определить их «иерархию». Если изучать реакцию параллельно на Т- и В-клеточных системах, можно с определенной уверенностью сказать, являются ли одни и те же V-гены (по Менделю) ответственными за синтез Т- и В-клеточных рецепторов,

или же для этого имеются разные гены. Некоторые авторы [8, 17, 18, 19] считают, что спектр полипептидных рецепторов Т-клеток соответствует спектру рецепторов В-клеток; другие авторы, наоборот, отрицают идентичность этих двух спектров [6, 9, 10, 14, 20]. Вопрос имеет принципиальный характер. Если спектры совпадают, можно предполагать, что материал для рецепторов Т- и В-клеток синтезируется одними и теми же локусами генов. Если же спектры не совпадают, то это показывает, что синтез Т- и В-клеточных рецепторов иммунологически детерминирован в разных локусах генов (хотя и в пределах макролокуса Н-2). По всей вероятности, вся иммунологическая информация кодирована все же в одних и тех же локусах Н-2, но дерепрессия этих локусов производится по-разному и путями, пока нам не известными.

Таким образом, вопрос о различиях между спектрами поверхностных рецепторов Т- и В-клеток до настоящего времени является неразрешенным. Дело в том, что различия в спектрах очень невелики и могут оставаться незаметными при использовании стандартных методов иммунологического исследования. По-прежнему остается актуальным вопрос о поисках новых точных методов определения специфичности иммунологических реакций и новых групп антигенов, вызывающих эффективную клеточную реакцию.

В настоящей работе методом кожного теста изучалась реакция гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) у мышей, вызванная иммунизацией животных различными белковыми и липидными конъюгатами гаптенов семейства АВА и др.

Материал и методика. Опыты были поставлены на 196 половозрелых мышках-самцах средним весом 20 г линии СВА, (СВА × С₅₇В1) · F₁ и др. Во всех сериях опытов был применен метод кожного теста с последующей радиометрической обработкой материала. Более подробно этот метод описан в нашей предыдущей работе [1]. Циклофосфамид вводился подкожно в дозе 200 мг/кг за 2 дня до «прайминга». Радиоактивный изотоп ¹²⁵I-уридин вводился внутривенно в дозе 2 мкСi/мышь. В части случаев (липидные конъюгаты гаптена) производилась и гистологическая обработка материала по стандартному методу, использованному нами в предыдущих исследованиях [4].

Исследовалось очень большое количество различных веществ — антигенов и их конъюгатов с гаптенами. Применялись препараты семейства RAТ (АВА-ТYR), некоторые липидные конъюгаты с гаптенами и другие; в основном те препараты, которые были хорошо изучены в отношении В-клеточного (гуморального) иммунитета на кафедре серологии и бактериологии Хельсинкского университета под руководством профессора О. Мякеля. В отношении же Т-клеточного (трансплантационного) иммунитета эти вещества менее изучены. Относительно мало работ, относящихся

к применению этих препаратов в развитии ГЗТ [5, 11, 12, 15, 16, 21].

На нижеследующей таблице (табл. 1) приведены все использованные основные препараты с характеристикой их применения:

Таблица 1

Использованные при иммунизации протенины и липиды с различными гаптенами-носителями

Название препарата	Доза на мышь, или на единицу веса	Способ введения (п. к. — подкожно; вн. к. — внутрикожно; вн. б. — внутрибрюшинно и вн. в. — внутривенно)
CGG in CFA	1° 500 мкг/мышь 2° 5, 10, 20, 40, 50 мкг/мышь	п. к. (вн. б.) вн. к.
Пневмококковый полисахарид III	2° 0,1 мл (10 мкг) мышь	вн. к.
Очищенный протеин RAT (ABA-TYR)	2° 10 мкг/мышь 2° 0,5 мкг/мышь 4,0 мкг/мышь	вн. к. вн. к. вн. к.
BOC-ABA-TYR in CFA	1° 400 мкг/мышь	п. к. (в кожу лапы)
ABA-MIP-BSA	1° 20 мкг/мышь 2° 5 мкг/мкл	п. к. вн. к.
ABA-HOP-BSA	1° 20 мкг/мышь 2° 10 мкг/мкл	п. к. вн. к.
NIP-CGG	1° 20 мкг/мышь	п. к.
NP-CGG	2° 15—30 мкг/мкл	вн. к.
NP-TBC in IFA	1° 500 мкг/мышь 2° 10 мкг/мышь	п. к. (в кожу лапы) вн. к.
NP-TBC in CFA	2° 80 мкг/мышь	вн. к.
NP-BSA-TBC in IFA	1° 100 мкг/мышь	п. к. (в кожу лапы)
NIP-LIPID in CFA	1° 200 мкг/10 мкл (40 мкг/мышь)	п. к. (в кожу лапы)

1° — первичное введение антигена («праймнинг»).

2° — вторичное введение антигена («иммунизация»).

Принятые сокращения:

CGG = Chicken gamma globulin (цыплячий гамма-глобулин);

BSA = Bovine serum albumin;

IFA = Incomplete Freund's adjuvant;

CFA = Complete Freund's adjuvant;

RAT = ABA-TYR = p-Azobenzenearsonate-L-tyrosine;

BOC = butyloxycarbonyl;

MIP = (4-Hydroxy-5-iodophenyl) acetyl;

NIP = (4-Hydroxy-5-iodo-nitrophenyl) acetyl;

NP = (4-Hydroxy-3-nitrophenyl) acetyl;

HOP = N^o-(4-Hydroxy-phenylacetyl).

Развитие реакции ГЗТ при иммунизации различными препаратами
(по данным радиометрии)

2°	1°	CGG (CFA)	BOC- ABA- TYR (CFA)	NP-TBC (IFA)	NP-BSA- TBC (IFA)	NIP- LIPID (CFA)	---
CGG*		(+)**				(-)	
Пневмококко- вый полиса- харид III							(-)
Очищенный протеин		(-)	(-)			(-)	
ABA-TYR			(+)				
ABA-MIP-BSA			(±)				
ABA-NOP-BSA			(-)				
NP-CGG		(±)		(-)	(±)	(+)	
NIP-CGG		(±)					
NOP-BSA			(-)				
NIP-LIPID					(+)	(+)	
NP-LIPID					(+)	(+)	

* При иммунизации CGG наиболее выраженный эффект наблюдается в средней дозе антигена 20—40 мкг/мышь.

** (+) — положительный; (±) — сомнительный и (-) — отрицательный ответ на антиген.

Результаты опытов. Результаты наших предварительных опытов приведены в таблице 2.

Результаты эти, как уже подчеркивалось, предварительные и связанные с большими методическими трудностями оценки реакции ГЗТ. Реакция слабо выражена и ее выявление затруднительно даже при условиях применения высокоспецифического иммунологического метода кожного теста по Миллеру (1975).



Рис. 1. Ухо мышей линии СВА в норме (А) и через 1 сутки после вторичного внутрикожного введения NIP-LIPID в полном адьюванте Фройнда (Б). Хорошо выраженная клеточная реакция в подкожной клетчатке уха на месте развития реакции ГЗТ. Азур II-эозин. 92 X.

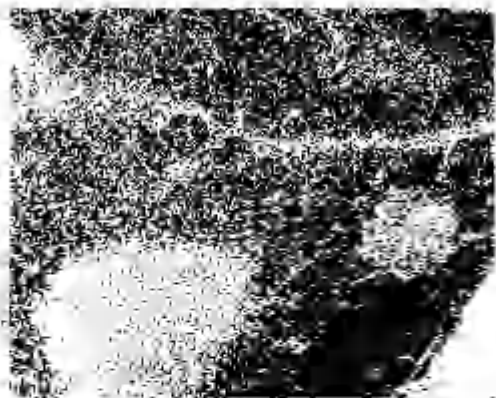


Рис. 2. Тимус мышей СВА в норме (А) и через 1 сутки после вторичного внутрибрюшного введения NIP-LIPID в полном адьюванте Фройнда (Б, В).

Картина инволюции органа у иммунизированных мышей (Б), появление светлых центров в мозговом веществе долек (В). Не исключено и поражающее воздействие циклофосамида в дозе 200 мг/кг, введенного за 2 дня до «прайминга».

Азур II-эозин. 92 X.



Р и с. 3. Селезенка мышей СВА в норме (А) и через 1 сутки после вторичного внутривенного введения NIP-LIPID в полном адьюванте Фройнда (Б, В). Появление массового количества мегакариоцитов в красной пульпе органа Аzur II-эозин. А и Б — 92 ×; В — 192 ×.

Тем не менее из таблицы видно, что наиболее четкий эффект отмечается при иммунизации животных липидными конъюгатами гаптена нитрофеноловой группы, по сравнению с протеиновыми конъюгатами. То же самое видно при гистологической обработке места иммунизации (рис. 1—3). В коже и подкожной клетчатке при эффeктивной иммунизации развивается хорошо выраженная моноклеарная реакция, отмеченная и на гистоавторадиографических исследованиях [15, 16].

Также видно, что из гаптенов более эффективными являются вещества нитрофеноловой группы (NP, NIP) и менее эффективными в заданных целях арсеносодержащие препараты группы АВА. Приблизительно такие же результаты были получены на кафедре серологии и бактериологии Хельсинкского университета при изучении влияния этих веществ на В-клеточную систему. Известное совпадение наших результатов с полученными на В-клеточной системе, позволяет считать, что структуры генов макролокуса Н-2, ответственные за синтез Т- и В-клеточных рецепторов в иммуноцитах, в большей или меньшей мере совпадают, или же расположены вблизи друг от друга. Это, естественно, не должно обозначать полную их идентичность. Вопрос далеко не разрешен. Эти весьма важные и актуальные вопросы иммуногенетики требуют дальнейших исследований в этом направлении.

Заключение. На 196 половозрелых мышах-самцах линии СВА и др. методом кожного теста с последующей радиометрической обработкой изучили развитие реакции ГЗТ при иммунизации различными протеиновыми и липидными конъюгатами гаптенов.

Установлено, что наиболее четкую реакцию ГЗТ вызывают липидные конъюгаты с гаптенами нитрофеноловой группы. В коже и подкожной клетчатке развивается выраженная моноклеарная реакция. Резко увеличивается включение ^{125}I -уридина в эти клетки. Менее выражена реакция при иммунизации животных протеиновыми конъюгатами гаптенов группы АВА.

Результаты в большой степени совпадают с полученными на В-клеточной системе и позволяют считать, что в геноме должны быть близкие локусы, ответственные за синтез Т- и В-клеточных рецепторов лимфоидных клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каартинен М. и Хуссар Ю. П. К иммуноморфологическому изучению Т-клеточной защитной системы у мышей. I. Метод кожного теста в исследовании реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). — Уч. зап. Тартуского гос. ун-та (в печати).
2. Петров Р. В. Введение в неинфекционную иммунологию. Новосибирск, «Наука», 1968.
3. Фриденштейн А. Я. и Чертков И. Л. Клеточные основы иммунитета. М., «Медицина», 1969, с. 256.

4. Хуссар Ю. П. Количественный экспериментально-гистологический анализ лимфоидной ткани в норме и при радиационном поражении. Дисс. докт. мед. наук. Тарту, 1972, с. 521.
5. Becker, M. J., Levin, H. a. Sela, M. The specificity of cellular immunity: studies in guinea pigs using defined tetrapeptides containing p-azobenzenearsonate-L-tyrosine. *Eur. J. Immunol.*, 1973, 3, 131—135.
6. Benacerraf, B. a. Levine, B. B. Immunological specificity of delayed and immediate hypersensitivity reactions. *J. exp. Med.*, 1962, 115, 1023—1036.
7. Burnet, F. M. *Cellular Immunology*. Melbourne, Cambridge, 1969.
8. Feldmann, M. Induction of immunity and tolerance in vitro by hapten-protein conjugates. II. Carrier independence of the response to dinitrophenylated polymerized flagellin. *Eur. J. Immunol.*, 1972, 2, 130—134.
9. Katz, D. H., Davie, J. M., Paul, W. E. a. Benacerraf, B. Carrier function in anti-hapten antibody responses. IV. Experimental conditions for the induction of hapten-specific tolerance or for the stimulation of anti-hapten anamnestic responses by "nonimmunogenic" hapten-polypeptide conjugates. *J. exp. Med.*, 1971, 134, 201—205.
10. Katz, D. H., Paul, W. E., Goidl, E. A. a. Benacerraf, B. Carrier function in anti-hapten immune responses. I. Enhancement of primary and secondary anti-hapten antibody responses by carrier preimmunization. *J. exp. Med.*, 1970, 132, 261—265.
11. Leskowitz, S. Use of Oxidized Proteins in the Examination of Immunochemical Specificity in Delayed Hypersensitivity to Hapten-Protein Conjugates. *Nature*, 1963a, 199, 4888, 85—86.
12. Leskowitz, S. Delayed Hypersensitivity to a Conjugate of Polytyrosine and its Inhibition by Haptens. *Nature*, 1963b, 199, 4890, 291—292.
13. McCluskey, R. a. Cohen, S. (eds.). *Mechanisms of Cell-Mediated Immunity*. New York, London, Sidney, Toronto, 1974, p. 418.
14. McDevitt, H. O. a. Landy, M. (eds.). *Genetic Control of Immune Responsiveness*. Ac. Press, Inc., New York, 1972.
15. Miller, J. F. A. P., Vadas, M. A., Whitelaw, A. a. Gamble, J. A. Radioisotopic Method to Measure Delayed Type Hypersensitivity in the Mouse. II. Cell Transfer Studies. *Int Archs Allergy appl. Immunol.*, 1975a, 49, 693—708.
16. Miller, J. F. A. P., Vadas, M. A., Whitelaw, A. a. Gamble, J. H-2 gene complex restricts transfer of delayed-type hypersensitivity in mice. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, 1975b, 72, 12, 5095—5098.
17. Mitchison, N. A. The carrier effect in the secondary response to hapten-protein conjugates. I. Measurement of the effect with transferred cells and objections to the local environment hypothesis. *Eur. J. Immunol.*, 1971, 1, 10—17.
18. Mitchison, N. A. Cell Interactions in the Immune Response. *Proc. 3rd Lepetit Colloquim. North Holland*, 1972, 112—118.
19. Rajewsky, K. a. Pohlit, H. Specificity of Helper Function. *Progr. Immunol.*, 1971, 1, 337—352.
20. Schirmacher, V. a. Wigzell, H. Immune Responses Against Native and Chemically Modified Albumins in Mice. I. Analysis of Non-Thymus-Processed (B) and Thymus-Processed (T) Cell Responses Against Methylated Bovine Serum Albumin. *J. Exp. Med.*, 1972, 136, 1616—1630.
21. Vadas, M. A., Miller, J. F. A. P., Gamble, J. a. Whitelaw, A. A Radioisotopic Method to Measure Delayed Type Hypersensitivity in the Mouse. I. Studies in Sensitized and Normal Mice. *Int. Archs Allergy appl. Immunol.*, 1975, 49, 670—692.

**ON IMMUNOMORPHOLOGICAL INVESTIGATION
OF CELL-MEDIATED IMMUNITY IN MICE.
II. STUDIES OF THE DELAYED-TYPE
HYPERSENSITIVITY (DTH) RESPONSE USING
RAT AND SOME LIPID CONJUGATES WITH
HAPTEN (PRELIMINARY REPORT)**

U. Hussar and M. Kaartinen

S u m m a r y

The development of the delayed-type hypersensitivity (DTH) in 196 adult male mice has been investigated 5 days after sensitization with various hapten-protein and hapten-lipid conjugates. Mice of various strains (CBA, [CBA×C₅₇BL]. F₁ a. oth.) were used for immunization. A skin test with radioisotopic measurement (¹²⁵I-UdR) of the activity of the DTH response has been used.

The most remarkable DTH response was noticed after an intradermal injection of the lipid-hapten conjugates with haptens NIP (4-Hydroxy-5-iodo-nitrophenyl-acetyl) and NP (4-Hydroxy-3-nitrophenylacetyl). The radioactivity in the left ear (in comparison with that of the right, "control"-ear) increased rapidly. The cellularity in the subcutaneous tissue was also increased (highly mononuclear cellular response).

The results are similar to those given on humoral immunity at the Department of Serology and Bacteriology of the University of Helsinki (Chief — Prof. O. Mäkelä).

НЕКОТОРЫЕ РАННИЕ ПОСТЭМБРИОНАЛЬНЫЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕЛЕЗЕНКИ ЦЫПЛЯТ

Ю. П. Хуссар, Я. В. Алаотс

Кафедра анатомии и гистологии Тартуского государственного университета.
Прибалтийская зональная научно-исследовательская ветеринарная
лаборатория

Селезенка является лимфоидным органом, непосредственно связанным с кооперацией Т- и В-лимфоцитов в иммунном ответе [3, 4, 7]. Окончательная гистологическая дифференцировка лимфоидной ткани селезенки к выполнению специфической (иммунной) функции происходит в раннем постэмбриональном периоде развития. В доступной литературе отсутствуют данные о комплексных гистоавторадиографических исследованиях этого периода развития селезенки. Более того, разные авторы указывают на различные сроки окончательной дифференцировки лимфоидной ткани селезенки у цыплят [8, 10]. Исходя из вышесказанного мы поставили перед собой целью разными гистоавторадиографическими методами исследовать динамику ранних возрастных изменений гистологической картины лимфоидной ткани селезенки цыплят, пролиферацию и дифференцировку составляющих ее клеток.

Исследовали материал 75 петушат породы белый леггорн. Во все исследованные сроки (на 4-, 8-, 12-, 20- и 30-е сутки) цыплят взвешивали и забивали путем декапитации. После вскрытия взвешивали лимфоидные органы. Материал для гистологического исследования фиксировался в жидкости Карнуа и заливался в парафин.

Проллиферативная активность лимфоидных клеток (синтез ДНК) и интенсивность белкового обмена определялась применением H^3 -тимидина и H^3 -метионина соответственно. H^3 -тимидин (предшественник ДНК) вводили внутрибрюшинно в дозе 0,5 мккюри/1 г веса тела четырехкратно в течение суток. Цыплята

этой серии забивались за 1 час после последнего введения изотопа. H^3 -метионин вводили внутривенно в дозе 0,5 мкюри/1 г веса тела за 4 часа до забоя цыплят. Производилась стандартная гистоавторадиографическая обработка материала [1, 2]. Использовалась жидкая фотоэмульсия типа «Р», выпускаемая Госнихимфотопроектом в Москве. Сроки экспозиции метионовых автографов равнялись 12, а тимидиновых — 24 суткам.

Общий анализ цитоархитектоники селезенки проводился на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином. Количественный гистологический и авторадиографический анализ проводился на препаратах, окрашенных по методу Браше и гемалауном соответственно. Использовался микроскоп МБИ-3 со вставленной в него стандартной окулярной сеткой или квадратной диафрагмой 8×8 мм. Увеличение микроскопа об. 90, ок. $7 \times 1,5$ (бинокуляр). Подсчет количества лимфоцитов и гипербазофилов производился на стандартную площадь $12\,800 \text{ мкм}^2$, подсчет же зерен радиоактивной метки H^3 -метионина на условную единицу площади 44 мкм^2 . Подсчет меченных H^3 -тимидином ядер производился на 5000 клеток и вычислялось КМЯ (количество меченых ядер на 1000 клеток).

Все цифровые данные подвергались вариационно-статистическому анализу (t-тест по Стьюденту).

Средний вес тела и селезенки увеличились линейно до конца исследованных сроков (рис. 1). В промежутке 4—30-и суток эти

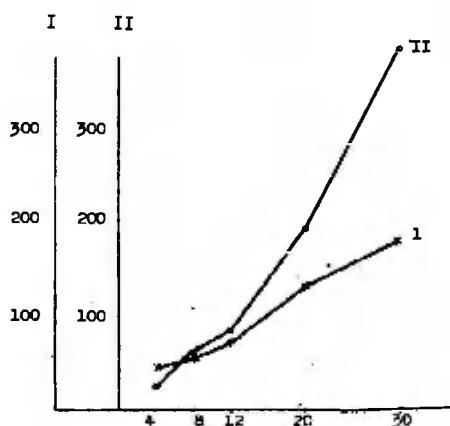


Рис. 1. Возрастное увеличение веса тела и селезенки цыплят. По оси ординат I — вес тела в г, по оси ординат II — вес селезенки в мг. По оси абсцисс возраст цыплят в сутках.

показатели увеличились в среднем в 5 и 10 раз. В то же время увеличивалось количество лимфоцитов на стандартную площадь на 55% (таблица). Таким образом, интенсивный рост селезенки сопровождается увеличением плотности лимфоцитов в белой пульпе органа.

Таблица

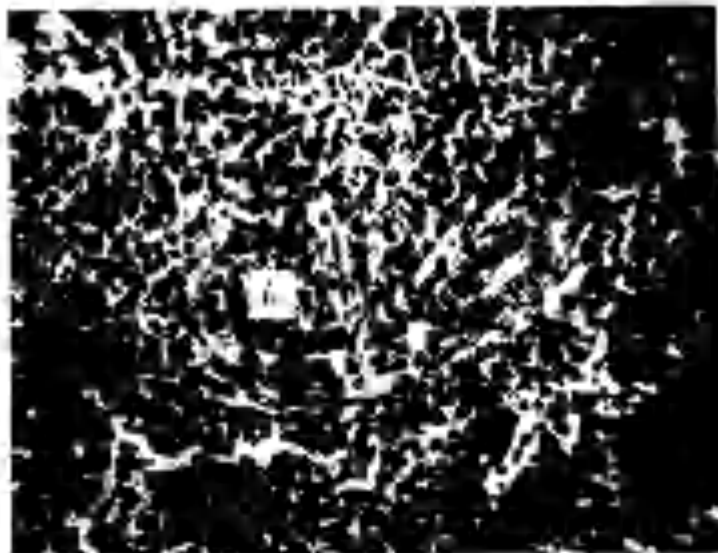
Возрастные изменения количества лимфоцитов и гипербазофилов на условную единицу площади 12 800 мкм², количества меченных Н³-тимидином ядер на 1000 клеток (КМЯ) и количества зерен радиоактивной метки Н³-метионина на 44 мкм²

Возраст цыплят	К-во лимфоцитов	К-во гипер-базофилов	КМЯ	К-во зерен метки Н ³ -метионина
4	206,3±2,1	3,4±0,2	673,1±8,4	0,62±0,02
8	235,2±7,9	3,2±0,1	—	0,63±0,03
12	241,9±5,3	3,3±0,06	563,7±8,1	0,78±0,02
20	303,8±14,5	4,0±0,1	—	0,86±0,01
30	320,0±13,2	3,9±0,05	265,5±3,2	0,85±0,06

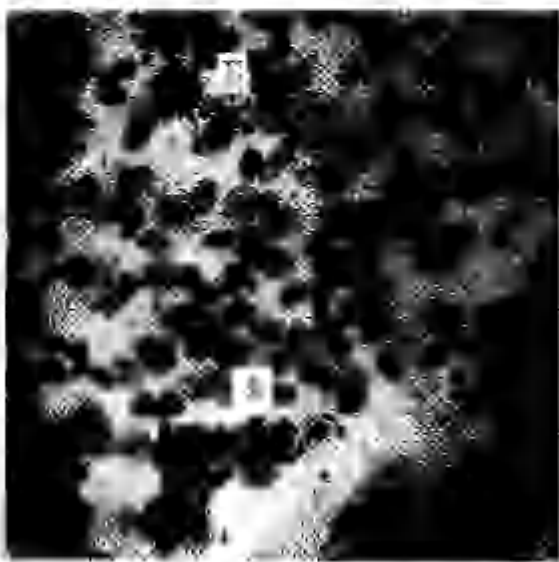
На 4-е сутки жизни ткань селезенки у цыплят дифференцирована на белую и красную пульпу, однако четкая граница между этими участками отсутствует. На 8-е сутки граница между красной и белой пульпой становится более четкой. Начиная с 12-ых суток наблюдалось утолщение периартериальной лимфоидной ткани и начало образования лимфатических фолликулов, которые становятся более дифференцированными на 20-е сутки. Если в начальные стадии развития фолликулы лишены капсулы, то дифференцированные фолликулы окружены четко выраженной капсулой (рис. 2). Таким образом, с возрастом происходит созревание лимфоидной ткани селезенки и появление иммунологически важных структур — лимфатических фолликулов. Время появления первых фолликулов в селезенке зависит от породы цыплят. Так например, по Janковиc [8], лимфатические фолликулы в селезенке цыплят белого леггорна появляются уже на 10-е сутки, по данным Rodak [10], у цыплят нью-гемпшира — не раньше 21 суток.

Пролиферативная активность лимфоидных клеток и уровень обмена белка в лимфоидной ткани селезенки также подвергаются четким возрастным изменениям. На 4-е сутки жизни (табл., рис. 3 и 4) мечеными Н³-тимидином оказались 67,3% из ядер (КМЯ равнялось 673), на 30-е сутки — всего 25,6% из ядер. Возрастное уменьшения синтеза ДНК в селезенке наблюдал также А. Е. Хованских (1974) [5].

Количество же зерен радиоактивной метки Н³-метионина в



Р и с. 2. Селезенка 20-дневного цыпленка. Зрелый лимфоидный фолликул (А), окруженный соединительнотканной капсулой. Окраска — гематоксилин-эозин. Ув.: 400 ×.



Р и с. 4. Включение H^3 -тимидина в лимфоидных (А) и ретикулярных (В) клетках лимфоидной ткани селезенки 4-дневного цыпленка в норме, 4-кратное введение изотопа. Экспозиция автографа 24 суток. Окраска — гемалаун. Ув.: 1000 ×.

селезенке, наоборот, увеличивалось с возрастом цыплят на 38% (таблица, рис. 3). В то же время наблюдалось увеличение на 55% общего количества лимфоцитов. Поэтому можно сказать, что возрастное увеличение синтеза белка в селезенке связано с увеличением общего количества лимфоцитов в органе.

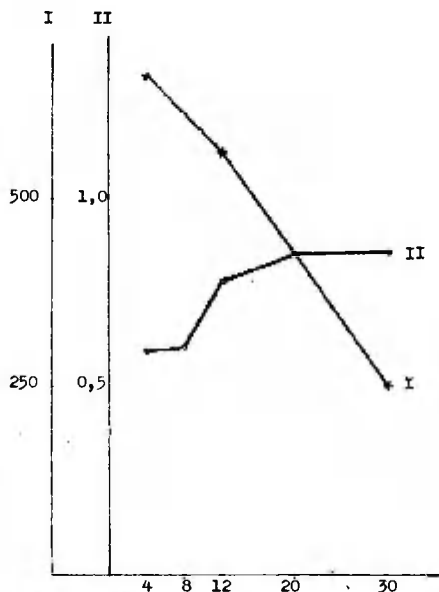


Рис. 3. Возрастные изменения КМЯ и количества треков H³-метионина. По оси ординат I — КМЯ, по оси ординат II — количество треков H³-метионина.

Количество гипербазофильных клеток в селезенке увеличивалось с возрастом цыплят до 20-ти суток и затем стабилизировалось. По данным литературы, гипербазофильные клетки являются предшественниками клеток плазмацитарного ряда [9]. Таким образом, возрастное увеличение их количества является одним из признаков дифференцированности лимфоидной ткани селезенки. Аналогичные изменения нами наблюдались в тимусе цыплят при исследовании пролиферации и дифференцировки клеток лимфоидной ткани [6].

В раннем постэмбриональном периоде (в течение месяца) происходят четкие возрастные изменения в лимфоидной ткани: про-

должается гистологическая дифференцировка лимфоидной ткани, появляются лимфатические фолликулы, увеличивается общее количество лимфоцитов и гипербазофилов на стандартную единицу площади и уровень синтеза белка, уменьшается пролиферативная активность лимфоидных клеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. Епифанова О. И., Терских В. В. Метод радиоавтографии в изучении клеточных циклов. М., 1969.
2. Жинкин Л. Н. Применение радиоактивных изотопов в гистологии. — В кн.: Жинкин Л. Н. Радиоактивные индикаторы в гистологии. Л., 1959, 5—33.
3. Фриденштейн А. Я., Чертков И. Л. Клеточные основы иммунитета. М., 1969.
4. Харлова Г. В. Регенерация лимфоидных органов у млекопитающих. М., 1975.
5. Хованских А. Е. Биохимические аспекты паразито-хозяйных взаимоотношений при кокцидиозах кур. Автореф. дисс. докт. Таллин, 1974.
6. Хуссар Ю. П., Алаотс Я. В. Ранние постэмбриональные изменения белкового обмена и синтеза ДНК в тимусе цыплят в норме и при пуллорозе. — Сб. науч. трудов Эст. с.-х. академии. 1975, 99, 128—131.
7. Соопер, М. Д., Петерсон, Р., Гуд, Р. А. Development and physiology of the lymphoid system. *Rheumatology*, 1970, 3, 61—102.
8. Jankovič, B. D. The development and function of immunologically reactive tissue in chicken. *Wiss. Ztschr. Friedrich-Shiller Univ. Jena*. 1968, 17, 137—148.
9. Policard, A. *Physiologie et Pathologie du Systeme Lymphoide*. Paris, Masson et Cie. Ed. Lib. De L'acad. de Med. 1963.
10. Rodak, L., Prochazka Z., Krejci J. Postembryonal histological changes in the bursa of Fabricius and spleen of chickens and their relationship to the development of immunological competence. *Br. vet. J.*, 1969, 125, 183—192.

SOME EARLY POSTEMBRYONAL HISTOLOGICAL CHANGES OF THE SPLEEN IN CHICKENS

U. Hussar and J. Alaots

Summary

Early postembryonal changes of cytoarchitectonic, proliferative activity and capacity of protein synthesis in the spleen were studied in 75 chickens. The intensity of protein metabolism and proliferative activity were estimated with H^3 -methionine and H^3 -thymidine respectively.

On the 12-th day the formation of lymphoid follicules in the white pulp of the spleen was established. On the 20-th day these follicules were surrounded with a capsule of connective tissue. The proliferative activity was decreasing and the capacity of protein synthesis increasing together with the age of chickens.

К ИЗУЧЕНИЮ ИНТЕНСИВНОСТИ БЕЛКОВОГО ОБМЕНА В ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ ТИМУСА И МЕЗЕНТЕРИАЛЬНОГО ЛИМФАТИЧЕСКОГО УЗЛА У МЫШЕЙ ЛИНИИ СВА В НОРМЕ И ПРИ СТАФИЛОКОККОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Ю. П. Хуссар и Н. Д. Чхолария

Кафедра анатомии и гистологии Тартуского государственного университета.
Отдел гистологии Института экспериментальной морфологии ГрССР

Лимфоидная ткань отличается высокой чувствительностью к воздействию различных внешних факторов, в том числе и супрессивных доз бактериальных токсинов. Стафилококковый и дизентерийный токсины, а также коклюшный эндотоксин в дозах ЛД₅₀₋₁₀₀ вызывают у мышей интенсивный распад лимфоцитов в корковом веществе долек тимуса, подавление митотического деления клеток, акцидентальную инволюцию и даже атрофические изменения органа [2, 3, 4, 5, 10]. Подавление пролиферативных процессов отмечается и в лимфатическом узле при интоксикации стафилококковым токсином в сублетальных дозах [6]. Аналогичная картина дегенеративных изменений лимфоидной ткани наблюдается также при экспериментальном туберкулезе и пуллорозе птиц [1, 12].

В настоящей работе методом гистоавторадиографии исследованы изменения интенсивности белкового обмена в лимфоидной ткани тимуса и мезентериального лимфатического узла у мышей СВА при стафилококковой интоксикации в сублетальных дозах (ЛД₃₀).

Материал и методика. Опыты были поставлены на 27 мышам-самцах линии СВА средним весом 20 г. Подопытные животные отравились стафилококковым токсином в сублетальных дозах (физиологический раствор токсина внутривентриально по 0,5 мл на мышь). Животных декапитировали через 3, 6, 12 часов, 1, 3, 5 и 10 суток после введения токсина. За 4 часа до забоя животным

внутрибрюшинно вводили H^3 -метионин (предшественник синтеза белка) по 0,5 мкCi/1 г веса. Материал (кусочки тимуса и мезентериального лимфатического узла) фиксировался по Карнуа. Дальнейшая обработка материала производилась по стандартной методике гистоавторадиографии [7]. Автографы получали на жидкой фотоэмульсии типа «Р», выпускаемой Госниихимфотопроектом в Москве. Срок экспозиции равнялся 21 суткам. Автографы окрашивались гемалауном.

Анализ препаратов производился при помощи микроскопа МБИ-1; увеличение микроскопа: об. 90, ок. 7. Подсчет количества лимфоцитов производился на поле зрения 12 800 мк²; подсчет же треков H^3 -метионина — на 100 квадратов окулярной сетки, площадь квадрата — 44 мк². Полученные цифровые данные подвергались вариационно-статистической обработке по Фишеру.

Результаты опытов. В лимфоидной ткани тимуса и мезентериального лимфатического узла отмечается неодинаковый уровень интенсивности белкового обмена (табл. 1 и 2). Количество зерен восстановленного серебра (количество включений H^3 -метионина) в тимусе на условную единицу площади 44 мк² равняется в среднем 5,1, а в лимфатическом узле — 3,95. При этом наиболее интенсивный обмен наблюдается в корковом веществе долек тимуса.

Через 1—5 суток после введения сублетальных доз стафилококкового токсина количество треков в тимусе снижается до 45—70%, а в лимфатическом узле — до 55—80% от исходного уровня. Падение числа лимфоцитов менее выражено — в обоих органах

Таблица 1

Изменения количества лимфоидных клеток на условную единицу площади 12 800 мк² в тимусе и мезентериальном лимфатическом узле у мышей линии СВА после введения стафилококкового токсина

Часы, дни опыта	Кол-во животных	Тимус		Мезентериальный лимфатический узел
		корковое вещество	мозговое вещество	
3 часа	3	405 ± 49	245 ± 38	—
6 часов	3	415 ± 52	250 ± 25	—
12 часов	3	410 ± 60	220 ± 27	350 ± 29
1 сутки	3	385 ± 41	190 ± 23	250 ± 22
2 суток	3	390 ± 44	175 ± 19	235 ± 25
3 суток	3	310 ± 37	150 ± 21	290 ± 23
5 суток	3	280 ± 32	180 ± 25	230 ± 26
10 суток	3	375 ± 43	210 ± 20	250 ± 32
Контроль:	3	450 ± 57	255 ± 34	360 ± 34
Всего:	27	—	—	—

Изменения количества включений H^3 -метионина на условную единицу площади 44 мк^2 в тимусе и мезентериальном лимфатическом узле у мышей линии СВА после введения стафилококкового токсина

Часы, дни опыта	Кол-во животных	Тимус		Мезентериальный лимфатический узел
		коровое вещество	мозговое вещество	
3 часа	3	$6,48 \pm 0,35$	$3,23 \pm 0,47$	—
6 часов	3	$5,70 \pm 0,52$	$2,75 \pm 0,42$	—
12 часов	3	$4,02 \pm 0,41$	$2,49 \pm 0,25$	$3,14 \pm 0,18$
1 сутки	3	$3,20 \pm 0,36$	$1,90 \pm 0,22$	$3,18 \pm 0,23$
2 суток	3	$3,92 \pm 0,39$	$2,44 \pm 0,28$	$2,08 \pm 0,17$
3 суток	3	$2,93 \pm 0,26$	$1,80 \pm 0,19$	$2,16 \pm 0,12$
5 суток	3	$2,77 \pm 0,24$	$2,02 \pm 0,25$	$2,31 \pm 0,19$
10 суток	3	$5,64 \pm 0,51$	$3,20 \pm 0,38$	$3,69 \pm 0,32$
Контроль:	3	$6,57 \pm 0,70$	$3,50 \pm 0,28$	$3,95 \pm 0,42$

до 60—90%. Через 10 суток интенсивность белкового обмена и количество лимфоцитов в тимусе приближаются к исходному. В диффузной лимфоидной ткани лимфатического узла белковый обмен восстанавливается, а количество лимфоцитов составляет всего 70% от исходного уровня. Следовательно, восстановление белкового обмена связано не только с увеличением количества лимфоцитов, но и с увеличением интенсивности белкового обмена в самих лимфоидных клетках.

Обсуждение. Анализ полученных результатов показывает, что стафилококковый токсин в сублетальных дозах вызывает заметное снижение интенсивности белкового обмена в лимфоидной ткани тимуса и мезентериального лимфатического узла у мышей СВА, обусловленное и уменьшением числа лимфоидных клеток и подавлением способности к синтезу белка в сохранившихся лимфоцитах. Однако в условиях однократной интоксикации в тяжелой степени лимфоидные клетки все же сохраняют способность к восстановлению белкового обмена, который через 10 суток после интоксикации в лимфатических узлах даже несколько превышает исходный уровень (количество лимфоцитов достигает 70% от исходного уровня, в то время как количество треков на стандартное поле зрения практически полностью восстанавливается).

Подавление синтеза белка в лимфоидных клетках при сильных внешних воздействиях отмечается и другими исследователями. При действии токсических продуктов деструкции фторопласта-3 заметно снижается активность включения S^{35} -метионина в клетки лимфоидной ткани лимфатического узла белой крысы [8]. Через 4 часа после общего однократного рентгеновского облу-

чения в дозе 1000 р подавляется синтез белка на C^{14} -лецитиновых автографах лимфоидных клеток селезенки крысы [11]. Подавление интенсивности общего белкового обмена в тимусе при острой лучевой болезни у крыс и цыплят и после местного облучения тимуса у цыплят, отражают в целом изменения морфологической картины органа (инволюции, атрофии и т. д.) и обуславливаются в первую очередь все же снижением количества лимфоцитов [9].

Микробное заражение животных вызывает несколько иную картину динамики изменения белкового обмена. Например, при пуллорозе у цыплят на фоне деструктивных изменений наблюдается интенсивное включение H^3 -метионина в лимфоидную ткань тимуса, клоакальной сумки и селезенки [1]. По мнению автора, заражение оказывает стимулирующий эффект на синтез белка в лимфоидных клетках. Это, по-видимому, объясняется ускоренным «созреванием» лимфоцитов и дифференцировкой их в пиронинофильные, в том числе плазматические, клетки, количество которых увеличивается. Не исключено и повышение фагоцитарной активности ретикулярных макрофагов, захватывающих H^3 -метионин.

Вопрос об изменениях интенсивности белкового обмена в лимфоидной ткани при супрессорных внешних воздействиях окончательно не разрешен. Не выяснены причины изменения общей интенсивности белкового обмена ткани (повышение фагоцитарной активности клеток РЭС, усиление плазматической реакции, и наконец, колебания числа клеток собственно лимфоидной популяции). Необходимы дальнейшие исследования в этом направлении.

Заключение. Опыты проводились на 27 взрослых мышках-самцах линии СВА, которым внутрибрюшинно вводилась сублетальная доза стафилококкового токсина ($ЛД_{50}$). Гистоавтордиографически (H^3 -метионин по 0,5 мкСi на 1 г) установлено, что стафилококковый токсин в больших дозах вызывает через 1—5 суток после введения подавление интенсивности белкового обмена в лимфоидной ткани тимуса и мезентериального лимфатического узла (до 45—80% от исходного). Это падение обусловлено: 1) снижением общего количества лимфоцитов и 2) уменьшением интенсивности белкового обмена в переживших интоксикацию лимфоцитах. Через 10 суток интенсивность синтеза белка практически восстанавливается.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алаотс Я. В. Ранние возрастные гистологические изменения лимфоидной ткани у цыплят в норме и при пуллорозе тифе. Автореф. дисс. канд. вет. наук. Гарту, 1976.
2. Бибинова Л. С. и Панова М. Ф. О морфологии некоторых общих реакций при бактериальных интоксикациях. Ежегодник ИЭМ АМН СССР, 1958, 3, 362—366.

3. Бибинова Л. С., Копытовская Л. П. и Букина А. П. Морфологические проявления общей реакции организма при дизентерийной интоксикации у мышей, лишенных надпочечников. В кн.: Вопросы инфекционной патологии. Л., 1962, 97—106.
4. Бибинова Л. С., Копытовская Л. П. и Букина А. П. К вопросу о значении распада лимфоцитов в развитии иммунитета. Ежегодник ИЭМ АМН СССР, 1963, 7/8, 3, 280—284.
5. Бибинова Л. С., Копытовская Л. П. и Букина А. П. О распаде лимфоцитов при экспериментальной стафилококковой интоксикации. Ежегодник ИЭМ АМН СССР, 1963, 7/8, 3, 292—295.
6. Гусихина В. И., Анатолий С. А. и Сапронов Н. С. Пролиферация клеток лимфоидной ткани и уровень кетостероидов при интоксикации. В кн.: Тканевая биология (Мат. 2-го республиканского совещания 1—2 июня, 1976 г. в Тарту). Тарту, 1976, 51—54.
7. Епифанова О. И., Терских В. В. и Захаров А. Ф. Радиоавтография. М., «Высшая школа», 1977, с. 246.
8. Долгова М. А., Евдокимов А. И. и Полякова Т. И. Изменения лимфатических узлов белой крысы при действии продуктов деструкции фторопласта-3 на фоне нарушений функции надпочечников. Арх. анат., гист. и эмбр., 1974, 67, 10, 20—25.
9. Хуссар Ю. П. Регенераторные процессы в тимусе при общем и местном рентгеновском облучении. Автореф. дисс. канд. мед. наук. Л., 1963.
10. Чхолария Н. Д. Морфология тимуса при экспериментальном лимфопеническом состоянии, вызванном стафилококковым токсином. Мат. I Закавказской конф. морфологов. Тбилиси, 1975, 260—262.
11. Chetty, K. G., Netrawali, M. S., Pradhan, D. S. a. Sreenivasan, A. Mechanisms underlying decreased protein and RNA synthesis in the rat spleen following whole-body X-irradiation. Strahlentherapie, 1976, 151, 3, 228—235.
12. Chevillie, N. F. a. Richards, W. D. The influence of thymic and bursal lymphoid systems in avian tuberculosis. Am. J. Path., 1971, 64, 97—113.

ON PROTEIN TURNOVER INTENSITY IN THE LYMPHOID TISSUE OF THE CBA MOUSE THYMUS AND MESENTERIAL LYMPH NODE IN NORMAL ANIMALS AND AFTER STAPHYLOCOCCAL INTOXICATION

U. Hussar and N. Tschkolaria

Summary

Changes in the number of thymus and mesenterial lymph node lymphoid cells and the intensity of protein turnover (autoradiographically with H^3 -methionine 0,5 mcCi/1 g) were investigated in 27 CBA mice after staphylococcal intoxication with a sublethal dose of LD₃₀. Radioautography was made using the standard methods of autoradiography. Radiographs were exposed for 21 days and stained with hemalaun.

It has been shown that following the intoxication the number of lymphocytes and the protein turnover activity in the thymus and lymph nodes decrease (20—45 and 10—30 per cent accordingly). 10 days after the intoxication an incomplete restoration has been noticed.

НЕКОТОРЫЕ СПОРНЫЕ ВОПРОСЫ СТРОЕНИЯ, ГИСТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОТЕНЦИЙ И СВОЙСТВ СТВОЛОВОЙ КРОВЕТВОРНОЙ КЛЕТКИ (СКК), КОЛОНИЕОБРАЗУЮЩЕЙ ЕДИНИЦЫ (КОЕ) И МАЛОГО ЛИМФОЦИТА КОСТНОГО МОЗГА

Ю. П. Хуссар и Е. П. Лушиков

**Кафедра анатомии и гистологии Тартуского
государственного университета**

Эти относительно новые и сложные вопросы гистогематологии и иммуноморфологии целесообразно рассматривать по отдельным проблемам. При этом необходимо затрагивать сначала общие вопросы развития проблемы (связи костномозговых клеток предшественников с малыми лимфоцитами, имеющих одну и ту же форму малой круглой клетки, а затем кинетику этих клеточных популяций, их судьбу, и, наконец, некоторые свойства костномозговых «лимфоцитов»).

1. Строение стволовой кроветворной клетки (СКК), колониеобразующей единицы (КОЕ) и малого лимфоцита костного мозга и гистогенетические связи между ними

Исследования строения малого лимфоцита костного мозга и гистогенетических связей его с другими клеточными элементами, в первую очередь со стволовыми кроветворными клетками, а также изучения потенций этой клетки имеют длительную историю. Связь лимфоцита с кроветворением впервые была установлена А. А. Максимовым (1927). Позднее эти исследования продолжались и наиболее реальным кандидатом на роль полипотентной стволовой клетки считали костномозговой лимфоцит [36, 37, 38]. Начиная с 60-х годов впервые появились работы, в которых трансплантациями костного мозга смертельно облученным мышам-реципиентам установили важную роль малых и средних

лимфоцитов в восстановлении кроветворения [34]. Широко используется также метод культивирования клеток в диффузионных камерах *in vivo* и культивирование клеток *in vitro*. Однако до сих пор неизвестно, являются ли лимфоциты костного мозга только клетками лимфоидного ряда или же включают в себя и морфологически сходные СКК. В настоящее время по этому вопросу продолжают интенсивные исследования. Установлен даже ряд морфологических различий (табл. 1) между КОЕ и малыми лимфоцитами костного мозга [12]. Однако морфологическая идентификация костномозговых лимфоцитов и КОЕс невозможна без учета кинетики их популяции [25, 26, 29, 30, 31]. Гистоавтордиографические исследования кинетики этих клеток показывают, что небольшие морфологические различия между СКК, КОЕс и лимфоцитами могут быть связаны лишь со стадией генерационного цикла, или степенью дифференцировки одной и той же популяции клеток.

Т а б л и ц а 1

Сравнение предположительной КОЕс и малого лимфоцита костного мозга [12]

Характеристика	КОЕс	Малый лимфоцит
Величина	7—10 мкм	Меньше 8 мкм
Форма		Круглая
— клетки	Неправильная, круглая	Круглая, с глубоким вдавлением
— ядра	Круглая, с вдавлением	Узкая
— ободка цитоплазмы	Узкая	Незаметные
Ядрышки	1—2, большие	Плотные комки
Хроматин	Равномерно распределяется	
Пластинчатый комплекс	Не виден	Присутствует
Эндоплазматический ретикулум	„	„
Лизосомы	Не видны	Присутствуют
Свободные рибосомы	Множество	„
Полисомы	Мало или отсутствуют	„
Митохондрии	Несколько малых	Немного больших
Малые пузырьки	Присутствуют	Присутствуют
Поливезикулярные тельца	Не видны	„

Одним из ведущих современных иммуноморфологов, изучавшим гистогенетические потенции и дифференцировку кроветворных, в том числе лимфоидных клеток по стволовой линии, является профессор А. Я. Фриденштейн [6, 7, 10]. Убедительно показано, что СКК костного мозга не образуют лимфоидных колоний в селезенке реципиента при первичной сингенной трансплантации, но способны к образованию их при ретрансплантациях клеток

смешанных колоний. Таким образом, СКК костного мозга всегда содержат и лимфоидные предшественники (КОЕл). И в этих работах, однако, не установлена гистогенетическая связь между СКК и собственно малыми лимфоцитами костного мозга; а также не учтена возможность реколонизации органа перешедшими извне лимфоцитами.

Итак, в настоящее время известно только то, что СКК, КОЕс и малые лимфоциты костного мозга имеют все в гистологической картине практически одну и ту же форму малой круглой клетки. При этом СКК представляет собой группу морфологически нераспознаваемых и недифференцированных мультипотентных предшественников всех рядов гемопоэза. КОЕ, обычно КОЕс (колониобразующие единицы, образующие колонии в селезенке), являются той субпопуляцией СКК, которая образует колонии-клоны в органах смертельно облученных мышей-реципиентов по методу Тилла и Мак Куллоха. Малые же лимфоциты собственно лимфоидной популяции костного мозга являются местными (образование КОЕл при ретрансплантациях костного мозга) и перешедшими из периферической крови (см. ниже).

2. Коротко- и долгоживущие «лимфоциты» костного мозга. Быстро- и медленнообновляющиеся популяции клеток

Как хорошо известно, короткоживущими считают лимфоидные клетки популяции, меченные в течение первых 4—5 суток постоянного контакта с H^3 -тимидином (прижизненно или же в культурах). Немеченные за это время клетки образуют долгоживущую популяцию. Быстрообновляющиеся клетки имеют короткий митотический цикл и быстрый кругооборот (несколько раз в сутки), медленно же обновляющиеся — продолжительный (в течение нескольких суток) цикл размножения.

Вопрос о количестве коротко- и долгоживущих лимфоцитов костного мозга окончательно не разрешен. По данным ряда авторов [19, 24], количество сверхдолгих костномозговых «лимфоцитов» собак и крыс (стволовых клеток) равнялось всего лишь 5—10%. Однако H^3 -тимидин вводился этими исследователями в течение нескольких месяцев и мечеными оказались не только короткоживущие, но и большая часть долгоживущих лимфоцитов. Наши данные (количество меченых H^3 -тимидином ядер лимфоидных клеток костного мозга морских свинок в течение первых 4-х суток введения изотопа 55%) хорошо согласуются с результатами тех авторов, которые считают, что приблизительно половина популяции костномозговых «лимфоцитов» является короткоживущими [9, 33]. Стимуляция клеток костного мозга радиацией или же другими внешними факторами вызывает переход значительной части долгоживущих лимфоцитов в митотический цикл с

увеличением фонда короткоживущих клеток [9, 20, 33]. Например, по нашим данным, радиация в дозе 300 р вызывает через 22 суток увеличение количества короткоживущих лимфоцитов в костном мозге морских свинок до 75%; средние дозы же стафилококкового анатоксина через 4—7 суток у мышей — до 70%.

По кинетике клеток и по скорости их кругооборота в костном мозге имеется две популяции — быстро- и медленнообновляющиеся (рис. 1). Между ними имеются и известные морфологические различия.

Быстрообновляющиеся малые лимфоциты имеют генерационное время равное 14—24 часам. Это время короче, чем у других лимфоцитов тимолимфатической системы (за исключением тимуса). Эти быстрообновляющиеся малые лимфоциты, по мнению вышеприведенных авторов, являются предшественниками лимфопоэза в костном мозге и В-лимфоцитов. В первые 3 суток

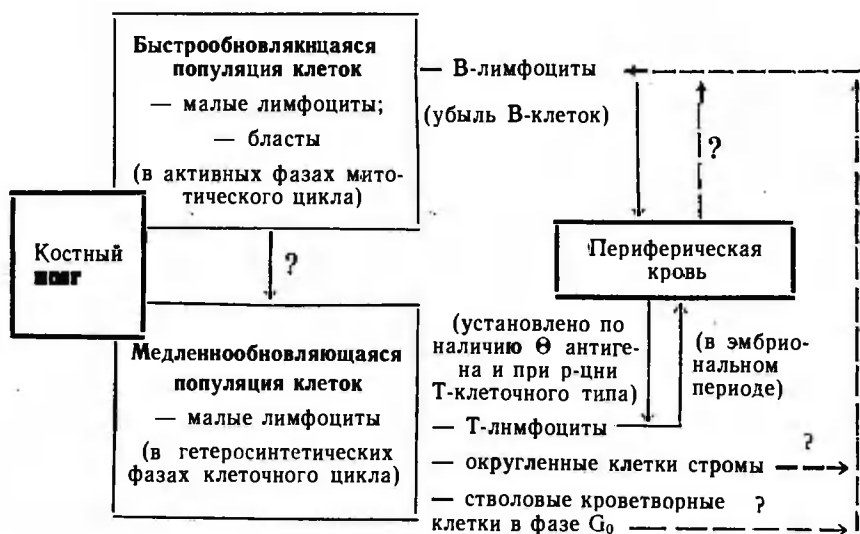


Рис. 1. Предполагаемая связь между лимфоидными клетками костного мозга и периферической крови.

постоянного введения Н³-тимидина мышам С₃H метятся 72—93% этих клеток [2, 6]. Очень высокая скорость обновления большей части костномозговых малых лимфоцитов установлена и другими авторами [16, 17, 23, 28].

Вторую большую группу представляют медленнообновляющиеся костномозговые малые лимфоциты. Некоторые ма-

лые лимфоциты оставались мечеными даже через 10 недель после 14-ти дневного постоянного введения H^3 -тимидина. Эта группа кинетически и функционально весьма гетерогенна и включает в себя следующие форменные элементы: 1) клетки, отщепившиеся от стромы и округлившиеся; 2) стволовые кроветворные клетки — СКК (G_0 -популяция) и 3) клетки, перешедшие из периферической крови. Последняя группа идентифицирована по наличию Θ -антигена на поверхности клетки, по способности к реакции «трансплантат против хозяина», а также по стимуляции ФГА [31, 32, 39, 40]. Некоторые авторы считают даже, что эта группа пришлых лимфоцитов образует всю популяцию собственно костномозговых лимфоцитов [5].

В некоторых работах [18] обе популяции костномозговых лимфоцитов (быстро- и медленнообновляющихся) называются родоначальными (стволовыми). Эти авторы считают, что стволовые клетки могут встречаться или в форме «лимфоцита» или же в «бласт»-форме. На наш взгляд, последнюю форму имеют все же только активно пролиферирующие лимфоидные клетки.

Из приведенных данных Миллера и Осмонда (1975) остается непонятным, за счет каких предшественников самоподдерживается быстрообновляющаяся лимфоидная популяция костного мозга. Вероятно, эти клетки содержатся в группе медленнообновляющихся элементов (G_0 -популяция), если такая группа клеток-предшественников в костном мозге вообще существует. Опыты по методу Тилла и Мак Куллоха показали, что трансплантированные в селезенку реципиента костномозговые клетки образуют колонии эритро-, грануло- и тромбоцитопоза (КОЕэ, КОЕг и КОЕтр) и никогда не образуются лимфоидные колонии (КОЕл) (см. [14]). КОЕл обнаружены в селезенке при ретрансплантациях [10], а также в самом костном мозге реципиента после облучения донорских клеток [11]. По-видимому, КОЕл в костном мозге имеются, но не всегда дают селезеночные колонии (отсутствие в поставленных опытах соответствующего антигенного стимулятора — «лимфопозитина»).

3. Радиопоражаемость и регенераторная способность лимфоидных клеток костного мозга

Лимфоидные клетки костного мозга в целом являются высокорадиочувствительными. Минимальная доза, вызывающая повреждение кроветворных клеток при введении ^{125}I -уридина, равняется $0,2 \text{ мкСi}$ на мышь. Аналогичные повреждения вызываются и применением H^3 -уридина. Поэтому все работы, относящиеся к исследованию популяционной кинетики клеток костного мозга, являются и исследованиями воздействия радиации на эти клетки. Исползованные всеми авторами дозы H^3 -тимидина вызывают

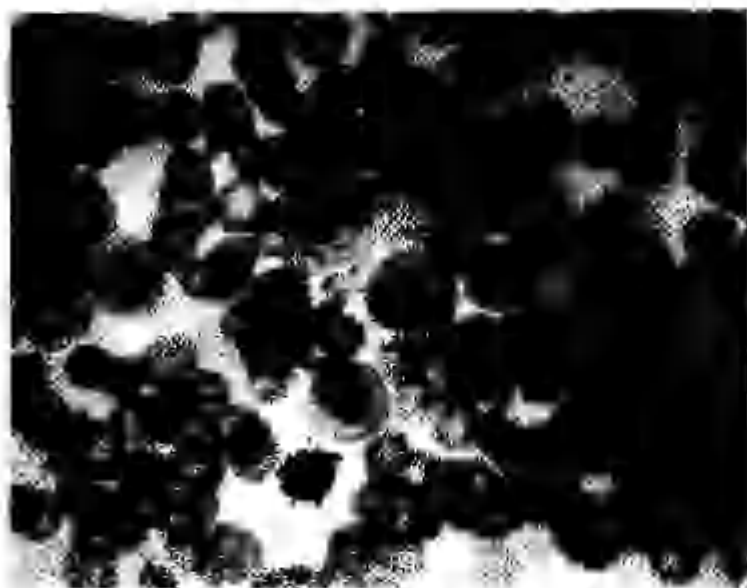
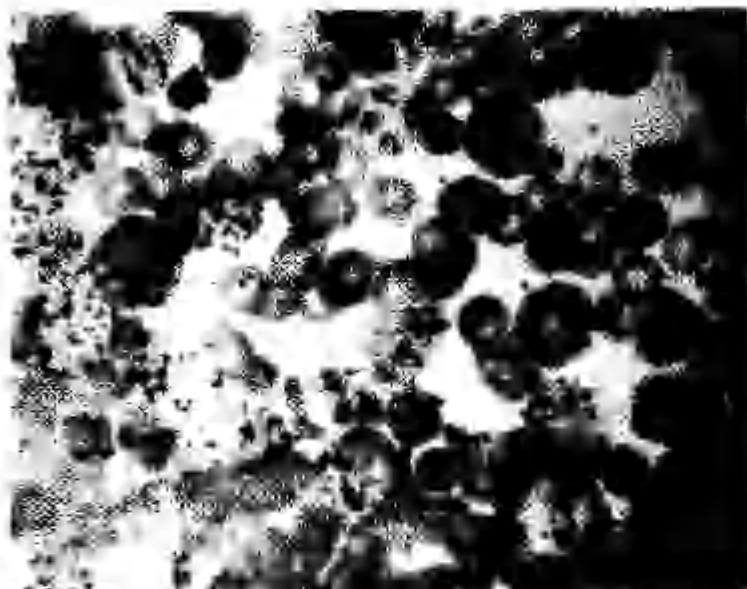


Рис. 2. Мечение кроветворных клеток костного мозга морской свинки H^3 -тимидином в норме (А) и через 27 суток после однократного общего рентгеновского облучения в дозе 50 р (Б). 7-кратное введение изотопа в дозе 0,5 мкСi/1 гр. Появление у облученных животных субпопуляции лимфоцитов с очень высоким уровнем синтеза ДНК. Азур II — зозин. 1060 X.

тимидиновое «самоубийство» костномозговых клеток [13, 15, 19, 26, 27, 29].

Нами исследовалась лимфоидная популяция костного мозга морских свинок в норме и после общего однократного рентгеновского облучения в дозах 50 и 300 р. Применялось многократное введение H^3 -тимидина в течение 1—4 суток. В результате исследования установлено почти линейное увеличение процента меченых ядер (ПМЯ) лимфоцитов, отражающее насыщение пула клеток, способных к синтезу ДНК. В норме метилось за это время около 55% из всех лимфоидных клеток (короткоживущие лимфоциты). Через 4 суток после облучения в дозах 50 и 300 р ПМЯ несколько ниже нормы, а через 22 суток значительно превышает исходные данные. Фонд короткоживущих лимфоцитов увеличивается до 75% («самоубийственная дифференцировка»), в то время как фонд долгоживущих снижается до 25%. Даже при облучении в небольшой дозе (50р) появляется субпопуляция лимфоцитов с очень высоким уровнем синтеза ДНК (рис. 2). Это, по-видимому, признак выхода части стволовых кроветворных клеток из резервного пула (G_0) и перехода в активные фазы митотического цикла. Выход клеток из состава резервного пула, несомненно, говорит о высокой их радиочувствительности. Это является одной из основных причин появления отдаленных осложнений со стороны кроветворных тканей (лимфолейкозы, аплазии и др.) при общей высокой регенераторной способности, наблюдаемой в течение первых недель пострадиационного периода. В данной работе мы не можем сказать, являются ли радиационно индуцированные и поврежденные СКК предшественниками лимфоидного ряда или же других рядов гемопоэза. Этот вопрос требует дальнейшей разработки. Тем более, что нет данных о сравнительном исследовании радиочувствительности стволовых кроветворных клеток и собственно лимфоидных клеток костного мозга. Все исследования, проведенные по методике Тилла и Мак Куллоха, относятся только к выяснению радиочувствительности СКК [10]. Да и то определяется не абсолютное количество пораженных СКК (в том числе КОЕл), а лишь неспособность их к образованию макроскопически видимых колоний в селезенке (по количеству КОЕс). Радиочувствительность СКК мышей довольно высокая (D_0 около 100 р). При этом относительная биологическая эффективность действия на кроветворные клетки наиболее высокая при рентгеновском облучении и наименее выражена при гамма-облучении и действии цезия-137. D_0 — это доза, вызывающая такое поражение изучаемых объектов, которое приводит к их снижению в e раз на экспоненциальной части кривой «доза-эффект».

Важно подчеркнуть, что радиочувствительность стволовых клеток костного мозга подвергается суточным колебаниям [35], не связанным с пострадиационной синхронизацией клеток попу-

ляции. Это, по-видимому, проявление общих закономерностей циркадной синхронизации биологических процессов в клетках, хорошо установленных в пролиферации лимфоидных и кроветворных клеток [1, 3, 8].

Несмотря на высокую радиочувствительность и — поражаемость, костномозговые клетки, как и все клетки кроветворной системы, сохраняют присущую им высокую регенераторную способность. При низкой мощности дозы (1 р/час) стволовые кроветворные клетки способны к восстановлению и после массивных доз облучения — 3830 р [22]. У покоящихся КОЕс поражение слабее, чем у быстропролиферирующих клеток, так как имеется больше времени для внутриклеточного восстановления [21]. Несколько неясны данные Н. Ф. Кондратенко (1975), согласно которым после сублетального (200 р) гамма-облучения мышей и последующих тяжелых пострadiационных изменений костного мозга (падение числа СКК до 4%) через две недели все же наблюдается полное восстановление кроветворения. Воздействие ионизирующей радиации всегда вызывает отдаленные последствия со стороны кроветворной ткани (лейкозы и т. д.). Одной из причин является длительное повреждение и понижение числа СКК. Через 1,5—2,5 года после облучения мышей в различных дозах, относительное и абсолютное содержание КОЕс в костном мозге остается сниженным в 2—3 раза (см. [10]).

* *
 *

В заключение можно сказать, что гистологическая картина, гистогенетические связи и свойства СКК, КОЕ и малого лимфоцита костного мозга окончательно не разрешены. Тем не менее можно считать установленным, что костномозговая популяция малых лимфоцитов поддерживается и собственными КОЕс и пришлыми с кровотоком предшественниками из других частей тела (из лимфоидных органов и др.). Лишь небольшая часть из всех СКК является КОЕс и практически отсутствуют КОЕс для лимфопоэза (КОЕл). Классический метод сингенной трансплантации клеток костного мозга смертельно облученным мышам-реципиентам с последующим подсчетом селезеночных макроколоний по методу Тилла и Мак Куллоха не пригоден при изучении предшественников лимфопоэза.

Одним из наиболее существенных свойств клеток-предшественников костного мозга является их высокая чувствительность к воздействию внешних факторов, в частности к воздействию ионизирующей радиации. В то же время костномозговые клетки обладают высокой регенераторной способностью и репарируют даже после сильных доз радиации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алов И. А. К вопросу о механизме суточной периодичности митозов. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1959, 11, 107—112.
2. Кондратенко Н. Ф. Кинетика основных отделов кроветворной системы в процессе пострадиационной регенерации. Бюлл. эксп. биол. и мед., 1975, 80, 10, 110—112.
3. Лагучев С. С. Суточные изменения числа клеток, синтезирующих ДНК в лимфоузлах (Радиоавторграфические исследования с применением H^3 -тимидина). 3-я конф. на анат. и гистол. в Б'лгария. Рез. Пловдив, 1967, 41.
4. Максимов А. А., Maximow, A. A. Bindegewebe und blutbildende Gewebe. In: V. Möllendorff's Hdb. der mikrosk. Anatomie des Menschen 2/1. J. Springer, Verl., Berlin, 1927, 232—584.
5. Торубарова Н. А. Кинетика лимфоцитов. В кн.: Кинетика форменных элементов крови. М., Медицина, 1976, 144—165.
6. Фриденштейн А. Я. и Лалыкина К. С. Индукция костной ткани и остеогенные клетки-предшественники. М., Медицина, 1973, с. 222.
7. Фриденштейн А. Я. и Чертков И. Л. Клеточные основы иммунитета. М., Медицина, 1969, с. 256.
8. Хуссар Ю. П. Суточный ритм митотического деления лимфоцитов тимуса у крыс в норме и при острой лучевой болезни. Тез. докл. VII Всесоюз. съезда анат., гист. и эмбр. Тбилиси, 1966, 451.
9. Хуссар Ю. П. и Чхолария Н. Д. Изменения пролиферативной активности лимфоидных клеток костного мозга мышей линии СВА при стафилококковой интоксикации (гистоавтордиографическое исследование). — Уч. зап. ТГУ. Тр. по медицине, 1977, 35, 38—47.
10. Чертков И. Л. и Фриденштейн А. Я. Клеточные основы кроветворения. М., Медицина, 1977, с. 272.
11. Швец В. Н. Очаги лимфоцитоподобных клеток в костном мозге облученных мышей. Мед. радиология, 1975, 20, 9, 70—72.
12. Веккум, D. W., Noord, M. J., Maat, B. a. Dicke, K. A. Attempts an identification of hemopoietic stem cell in mouse. Blood, 1971, 38, 547—558.
13. Bond, V. B., Fliedner, T. M., Cronkite, E. P., Rubini, J. R. a. Robertson, J. S. Cell turnover in blood and blood-forming tissues studied with tritiated thymidine. In: The Kinetics of Cellular Proliferation. Ed. by F. Stohlman, New York a. London. Grune a. Stratton, 1959.
14. Burnet, F. M. Cellular Immunology. Melbourne, Cambridge, 1969.
15. Cronkite, E. P., Bond, V. P., Fliedner, T. M. a. Rubini, J. R. The use of tritiated thymidine in the study of DNA synthesis and cell turnover in hemopoietic tissues. Lab. Invest., 1959, 8, 263.
16. Everett, N. B. a. Caffrey, R. W. Radioautographic studies of bone marrow small lymphocytes. In: The Lymphocyte in Immunology and Haemopoiesis. Ed. by J. M. Yoffey. London, 1967, 108—122.
17. Everett, N. B., Rieke, W. O., Reinhardt, W. O. a. Yoffey, J. M. Radioisotopes in the study of blood cell formation, with special reference to lymphocytopoiesis. In: Haemopoiesis. Cell production and its regulation. Ciba Found. Symp. Ed. by G. E. W. Wolstenholme a. M. O'Connor. Churchill, Ltd., London, 1960, 43—69.
18. Haas, R. J., Flad, H. D. a. Fliedner, T. M. Correlation between cyto-kinetically resting lymphocytes and bone marrow restoration. Blood, 1973, 42, 209—218.
19. Haas, R. J., Bohne, F. a. Fliedner, T. M. On the development of slowly-turning-over cell types in neonatal rat bone marrow (Studies utilizing the complete tritiated thymidine administration). Blood, 1969, 34, 6, 791—805.
20. Haas, R. J., Fliedner, T. M. a. Stehle, H. Cytokinetic analysis of

- slowly renewing bone-marrow cells after administration of nitrogen mustard. Proc. J.A.F.A. Vienna, 1968, 205—208.
21. Hendry, J. H. Differential split-dose response of resting and proliferating CFU. Int. J. Rad. Biol., 1973, 24, 469—473.
 22. Югаскова, 1967. Цит. И. Л. Чертков и А. Я. Фриденштейн. Клеточные основы кроветворения. М., Медицина, 1977.
 23. Keiser, G., Bryant, B. J. a. Bond, V. P. Autoradiographic studies of lymphoid cells in blood and bone marrow of normal and irradiated dogs. Rad. Res., 1966, 28, 166—180.
 24. Lajtha, L. G., Oliver, R. a. Curney, C. W. Kinetic model of a bone-marrow stem cell population. Brit. J. Haemat., 1962, 8, 442—448.
 25. Miller, S. C. a. Osmond, D. G. The proliferation of lymphoid cells in guinea-pig bone marrow. Cell Tissue Kinet., 1973, 6, 259—264.
 26. Miller, S. C. a. Osmond, D. G. Lymphocyte population in mouse bone marrow: quantitative kinetic studies in young, pubertal and adult C₃H mice. Cell Tissue Kinet., 1975, 8, 97—110.
 27. Osmond, D. G. Lymphocyte production in the bone marrow: radioautographic studies in polycythaemic guinea pigs. In: The Lymphocyte in Immunology and Haemopoiesis. Ed. by J. M. Yoffey, London, 1967, 120—132.
 28. Osmond, D. G. a. Everett, N. B. Radioautographic studies of bone marrow lymphocytes in vivo and in diffusion chamber cultures. Blood, 1964, 23, 1—7.
 29. Osmond, D. G., Miller, S. C. a. Yoshida, Y. Kinetic and haemopoietic properties of lymphoid cells in the bone marrow. Ciba Found. Symp. on Haemopoiesis: Haemopoietic Stem Cells. Ed. by G. W. Wolstenholme a. M. O'Connor. ASP, Amsterdam, 1973, 131—138.
 30. Osmond, D. G. a. Nossal, G. J. V. Differentiation of lymphocytes in mouse bone marrow. I. Quantitative radioautographic studies of antiglobulin binding by lymphocytes in bone marrow and lymphoid tissues. Cell Immunol., 1974, 13, 117—131.
 31. Osmond, D. G. a. Nossal, G. J. V. Differentiation of lymphocytes in mouse bone marrow. II. Kinetics of maturation and renewal of antiglobulin-binding cells studied by double labeling. Cell. Immunol., 1974, 13, 132—142.
 32. Osmond, D. G. a. Yoshida, Y. Blastogenic transformation in lymphocyte rich fractions of guinea-pig and rat bone marrow. Proc. 4th Ann. Leukocyte Culture Conference. Ed. by R. McIntyre, New York, 1971, 97.
 33. Thomas, E. D., Fliedner, T. M., Thomas, D. a. Cronkite, E. P. The problem of the stem cell. Observations in dogs following nitrogen mustard. J. Lab. Clin. Med., 1965, 65, 764—766.
 34. Till, J. E. a. McCulloch, E. A. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. Rad. Res., 1961, 14, 213—222.
 35. Уепо, 1968. Цит. И. Л. Чертков и А. Я. Фриденштейн. Клеточные основы кроветворения. М., Медицина, 1977.
 36. Yoffey, J. M. The lymphomyeloid complex. In: Haemopoiesis. Cell production and its regulation. Ciba Found. Symp. Ed. by G. E. W. Wolstenholme a. M. O'Connor. Churchill. Ltd., London, 1960, 1—42.
 37. Yoffey, J. M. a. Courtice, F. C. Lymphatics, lymph and lymphoid tissue. Harvard Univ. Press. Cambridge, Massachusetts, 1956.
 38. Yoffey, J. M., Hanks, G. A. a. Kelly, L. Some problems of lymphocyte production. Ann. N. Y. Ac. Sci., 1958, 73, 47—51.
 39. Yoshida, Y. a. Osmond, D. G. Blastogenic response of lymphocytes separated from bone marrow to allogenic lymphoid cells in vitro. Immunology, 1971, 21, 767—772.
 40. Yoshida, Y. a. Osmond, D. G. Grafts versus host activity of rat bone marrow, marrow fractions and lymphoid tissues quantitated by a popliteal lymph node weight assay. Transplantation, 1971, 12, 121—125.

ON STRUCTURE, POTENCIES AND CHARACTER OF THE STEM CELLS (SC), COLONY FORMING UNITS (CFU) AND BONE MARROW SMALL LYMPHOCYTES

Ü. Hussar, a. J. Luschikov

Summary

Stem cells (SC), colony forming units (CFU) and lymphocytes of the bone marrow are morphologically similar cells, all of them are called "small lymphocytes". These small lymphocytes are kinetically and functionally heterogeneous in the mouse bone marrow and fall into two distinct groups: 1) rapidly renewing small lymphocytes (short-lived, B-precursors locally produced by the division of multipotent cells within the marrow) and 2) slowly renewing small lymphocytes (long-lived resting stem cells, locally produced, and T-lymphocytes entered to the bone marrow from the blood stream).

SC, SFU and bone marrow lymphocytes are highly radiosensitive cells. Minimal doses of radiation (0,2 mCi of ^{125}I -UdR per mouse) caused a remarkable injury of the precursor cells. Sometimes the bone marrow cells have a high regenerative capacity. A complete restoration followed in 2—3 weeks after the irradiation.

КАРИОМЕТРИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЛИМФОИДНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ЦЕНТРАЛЬНЫХ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ У МОРСКИХ СВИНОК ПРИ ОБЩЕМ РЕНТГЕНОВСКОМ ОБЛУЧЕНИИ

Е. П. Лущиков и Ю. П. Хуссар

Кафедра анатомии и гистологии
Тартуского государственного университета

Воздействие ионизирующей радиации на лимфоидные клетки (радиочувствительность и -поражаемость, восстановительные процессы и т. д.) изучается весьма разнообразными методиками. Одним из наиболее эффективных и объективных методов изучения пострadiaционных изменений лимфоидной популяции является метод карิโอметрии [2, 3, 4, 5, 6].

Целью настоящей работы является карิโอметрическое исследование лимфоидной популяции морских свинок при рентгеновском облучении.

Материал и методика. Опыты были поставлены на 50 морских свинок самцах средним весом 500 г. Экспериментальные животные были разбиты на 5 групп по 10 животных в каждой — контроль (I), общее однократное рентгеновское облучение в дозах 50 (II—III) и 300 р (IV—V группы). Рентгеновское облучение производилось на аппарате РУМ-II. Условия облучения: напряжение 200 кв, сила тока 15 мА, фильтр — 1,0 мм Си, тубус — 10×15 см, фокусное расстояние — 50 см, мощность дозы 40 р/мин. Животные забивались через 4 (II, IV) и 22 суток (III—V группы) после облучения. В заданных целях наиболее эффективными являются малые и очень сильные (сублетальные и летальные) дозы облучения и крайние (узловые) сроки опыта (самые первые и отдаленные — через 3—4 недели). Малые дозы позволяют зафиксировать первые признаки радиопоражаемости (соответственно чувствительности) лимфоцитов. Зато массивные дозы облучения дают более четкую картину пострadiaционных изменений. Ранние сроки исследования позволяют судить о первичном

эффекте радиации до развития лучевого синдрома, поздние же — судить о восстановительных процессах в тканях.

Материал (кусочки тимуса, селезенки и мезентериального лимфатического узла) фиксировали по Карнуа. Парафиновые срезы толщиной 7 мк окрашивали обычными гистологическими методами. Кариометрию производили на препаратах, окрашенных по Фельгену. Мазки костного мозга из правой бедренной кости фиксировали метанолом в течение 3-х минут и окрашивали азур II-эозином.

Прямая кариометрия производилась при помощи линейного окуляр-микрометра (или винтового окуляр микрометра АМ9-2). Использовался микроскоп МБИ-6 при об. 90X, ок. 7X, 2,5X (бинокуляр). Измеряли диаметры ядер 100 лимфоидных клеток отдельных зон лимфоидных органов. По данным прямой кариометрии вычислялись диаметры и объемы ядер лимфоцитов по формулам, предложенным Я. Е. Хесиным (1967). Полученные цифровые данные обрабатывались на малой универсальной электронной вычислительной машине дискретного действия «Наири-2». После предварительной перфорации экспериментальных данных по соответствующим программам были получены гистограммы и параметры распределений. Цифровые данные подвергали вариационно-статистическому анализу (t-тест по Стьюденту).

Результаты опытов. Полученные данные приведены в ряде таблиц (табл. 1—4). Как видно из первой таблицы (табл. 1), в лимфоидной популяции костного мозга во всех сроках наблюдения (за исключением срока 4 суток при малой дозе — 50 р) достоверное увеличение диаметра и объема ядер клеток ($p < 0,01—0,001$).

В коре долек тимуса (табл. 2), наоборот, достоверное увели-

Т а б л и ц а 1

Динамика кариометрических изменений лимфоидной популяции костного мозга морских свинок после общего однократного рентгеновского облучения в дозах 50 и 300 рентген *

Условия облучения		Группы животных	Средний диаметр в мк среза	Средний объем в мк ³
Сутки после облучения	Доза рентген			
4	50	II	8,10 ± 0,23	278,24 ± 23,72
22	50	III	8,80 ± 0,21	356,83 ± 25,55
4	300	IV	8,85 ± 0,19	362,96 ± 23,38
22	300	V	8,82 ± 0,21	359,24 ± 25,66
Контроль		I	8,19 ± 0,21	287,67 ± 22,12

* Измерения производились на мазках.

Таблица 2

Динамика карิโอметрических изменений лимфоидной популяции коркового вещества долек тимуса морских свинок после общего однократного рентгеновского облучения в дозах 50 и 300 рентген

Группы животных	Средний диаметр в мк среза	Средний объем в мк ³
II	5,16±0,064	71,99±2,68
III	4,81±0,073	58,31±2,65
IV	4,90±0,113	61,65±4,66
V	4,70±0,094	54,40±3,26
I	4,89±0,076	61,27±2,86

Таблица 3

Динамика карิโอметрических изменений лимфоидной популяции различных зон лимфатического фолликула селезенки морских свинок после общего однократного рентгеновского облучения в дозах 50 и 300 р

Группы животных	Средний диаметр в мк среза	Средний объем в мк ³
Светлый центр		
II	6,45±0,20	140,48±23,09
III	7,21±0,16	196,25±23,06
IV	6,91±0,17	172,74±12,75
V	6,78±0,16	163,21±11,57
I	6,38±0,16	135,98±10,23
Диффузная лимфоидная ткань фолликула		
II	5,31±0,10	78,38±4,42
III	6,10±0,12	118,86±7,02
IV	5,73±0,11	98,49±5,68
V	6,13±0,11	120,58±6,49
I	4,94±0,10	63,15±3,82
Перифолликулярная зона		
II	6,26±0,14	128,44±8,61
III	6,29±0,14	130,32±8,69
IV	6,83±0,21	166,82±15,39
V	6,35±0,10	134,04±6,33
I	6,08±0,18	117,70±10,44

чение размеров ядер лимфоцитов только в одном случае — 4 суток после облучения в дозе 50 р ($p < 0,01$).

Наиболее гомогенная картина изменений наблюдается в периферических лимфоидных органах в селезенке и мезентериальном лимфатическом узле (табл. 3 и 4). В лимфатическом фол-

Таблица 4

Динамика кариометрических изменений лимфоидной популяции различных зон мезентериального лимфатического узла морских свинок после общего однократного рентгеновского облучения в дозах 50 и 300 р

Группы животных	Средний диаметр в мк среза	Средний объем в мк ³
Светлый центр		
II	6,30 ± 0,16	133,61 ± 10,26
III	6,53 ± 0,16	145,77 ± 10,71
IV	7,12 ± 0,16	188,97 ± 12,72
V	7,28 ± 0,15	202,00 ± 12,49
I	6,84 ± 0,15	167,55 ± 11,02
Паракортикальная зона		
II	5,30 ± 0,09	77,96 ± 3,98
III	5,43 ± 0,11	83,83 ± 2,72
IV	6,23 ± 0,11	126,61 ± 6,70
V	5,23 ± 0,07	74,93 ± 3,01
I	5,37 ± 0,11	81,11 ± 5,00
Мозговое вещество		
II	5,62 ± 0,11	92,94 ± 5,44
III	6,30 ± 0,13	130,90 ± 8,09
IV	6,86 ± 0,17	169,02 ± 12,56
V	6,61 ± 0,14	151,22 ± 9,61
I	5,87 ± 0,14	105,92 ± 7,59

ликуле селезенки в подавляющем большинстве случаев отмечается достоверное увеличение размеров лимфоцитов ($p < 0,05 - 0,001$). Исключением являются только лимфоциты светлого центра фолликула через 4 суток после облучения в дозе 50 р, а также лимфоидные клетки перифолликулярной зоны при дозе 50 р.

В мезентериальном лимфатическом узле (табл. 4) наблюдается увеличение размеров ядер в паракортикальной зоне и мозговом веществе (за исключением дозы 50 р в первой из названных зон). В светлом центре картина изменений гетерогенная и сравнима с картиной, наблюдаемой в коре долек тимуса.

Обсуждение. Хотя, на первый взгляд, анализ этой весьма гетерогенной картины кариометрических изменений лимфоидной популяции различных органов затруднен, можно все же сделать ряд определенных предположений и выводов. Так, например, увеличение размеров лимфоцитов костного мозга, вероятно, объясняется тем, что в первую очередь погибают и выделяются из

организма почти все малые лимфоциты. Оставшиеся относительно радиорезистентные крупные бласт-формы, как четко показывают наши исследования на крысах при внутреннем облучении цезием-137 [2, 3], обуславливают увеличение ядер данной лимфоидной популяции. Наличие большого числа таких бласт-форм, включенных нами в популяцию лимфоидных клеток, характерно только для костного мозга.

Несколько по-другому обстоит дело в коре долек тимуса, где вышеописанные бласт-формы составляют лишь незначительную группу клеток. Имеющиеся здесь корковые тимолимфоциты, как известно, являются высокорadioчувствительными. Поэтому относительно малые дозы облучения вызывают увеличение размеров ядер, а большие (сублетальные) — даже известное уменьшение (эффект пикнотизации всех генераций лимфоидных клеток и др.).

В периферических лимфоидных органах наиболее гетерогенная картина наблюдается в светлых центрах фолликулов лимфатического узла. Это объясняется, по-видимому, морфофункциональной лабильностью этой зоны. Наиболее четкая и гомогенная картина отмечается в зонах, содержащих высокодифференцированные клетки лимфоидного ряда. Так например, в перифолликулярной зоне мальпигиевых телец, где лимфоидные клетки окончательно дифференцированы, увеличение размеров ядер происходит только при сублетальной дозе облучения (300 р). В то же время отмечается известное различие между Т- и В-клеточными зонами. Первые из них содержат более радиорезистентные лимфоидные клетки. Это отчетливо видно в паракортикальной зоне лимфатического узла, где увеличение размеров ядер отмечено только после облучения в дозе 300 р.

После такого предварительного анализа полученных данных и сделанных выводов можно сказать, что при определении радиочувствительности лимфоидных клеток необходимо учитывать, кроме известных факторов (степень дифференцировки клеток, характер и доза облучения и др.), еще иерархическую структурную организацию тимолимфатической системы. Это позволяет понять качественно однонаправленные изменения на низших уровнях структурной организации (на уровне лимфоидной популяции и тканей), а также весьма гетерогенную и сложную картину изменений на более высоких уровнях (на уровне морфофункциональных единиц и целостных органов). Естественно, что костный мозг, первичный орган гемопоэза (в том числе и лимфопоэза) в постнатальном периоде, имеет свои четкие особенности строения и свойств его лимфоидных клеток (наличие относительно радиорезистентных бласт-форм, теснейшие связи с другими ростками кроветворения и т. д.).

Свои особенности имеют и морфофункциональные единицы

(зоны) долек тимуса. Наиболее четко различные уровни морфофункциональной организации представлены на примере лимфатического узла. В светлом центре, находящемся, как известно, на лабильной стадии филогенетического становления, картина радиопоражаемости и радиочувствительности лимфоидных клеток нечеткая. Зато в окончательно сформировавшихся Т- и В-клеточных зонах получены совершенно четкие результаты: в Т-клеточной зоне (менее радиочувствительной) размеры ядер лимфоцитов увеличиваются только при сублетальных дозах облучения, в В-клеточной зоне — во всех случаях опытов, даже при дозе 50 р.

Заключение. На 50 морских свинках-самцах методом прямой кариометрии исследовались изменения размеров ядер клеток лимфоидной популяции костного мозга, тимуса, селезенки и мезентерального лимфатического узла в норме и после общего однократного рентгеновского облучения в дозах 50 и 300 р.

Установлены четкие зональные различия в размерах ядер лимфоцитов. Наиболее крупными являются лимфоциты костного мозга и светлого центра лимфатического фолликула периферических лимфоидных органов. Через 4 суток после облучения в дозах 50 и 300 р размеры лимфоцитов увеличиваются (за исключением костного мозга) и остаются повышенными до конца исследования (22 суток). Наиболее четкое увеличение диаметра и объема ядер отмечено в селезенке и мезентериальном лимфатическом узле. В светлом же центре лимфатического узла изменения весьма гетерогенные.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хесин Я. Е. Размеры ядер и функциональное состояние клеток. М., Медицина, 1967.
2. Хуссар Ю. П. Количественный экспериментально-гистологический анализ лимфоидной ткани в норме и при радиационном поражении. Дисс докт. мед. наук. Тарту, 1972, с. 522.
3. Хуссар Ю. П., Токин И. Б., Лушиков Е. П. и Хуссар В. С. Кариометрическое исследование лимфоидной популяции пахового лимфатического узла крысы при внутреннем облучении цезием-137. Радиобиология. 1972 12, 6, 840—843.
4. Berke, H. L., Wilson, G. H. a. Berke, E. S. Size Distribution Changes in Peripheral Lymphocytes of the Rat after X-Irradiation. Rad. Res., 1969, 37, 1, 181—191.
5. Everett, N. B., Caffrey, R. W. a. Rieke, W. O. Radioautographic Studies of the Effect of Irradiation on the Long-Lived Lymphocytes of the Rat. Rad. Res., 1964, 21, 383—393.
6. Sipilä, S. Late effect of 200 R whole body roentgen irradiation on rats (with special reference to organ weights, mitotic frequency and lymphocyte size). Arch. path. microbiol. scandinav. Suppl. 141, 1960, 50.

SIZE DISTRIBUTION CHANGES IN CENTRAL AND PERIPHERAL LYMPHOCYTES OF THE GUINEA PIGS AFTER TOTAL BODY X-IRRADIATION

J. Luschikov and U. Hussar

Summary

The investigation was performed in 50 male guinea pigs weighing about 500 g. The nuclear sizes in the preparations stained after Feulgen were counted caryometrically in various zones of the thymus, spleen and mesenterial lymph nodes. The bone marrow smears were stained using azure II — eosine method.

It was established that the nuclei of the bone marrow and spleen lymphoid cells were the largest, while those of the thymus and lymph node lymphocytes were the smallest. At the same time intra- and interorganic distribution of the lymphocytes was of zonal character. Lymphoid population of the cortex of the thymus lobes was highly homogeneous; that of the cells of the spleen and lymph nodes *centra lucida* was more heterogeneous. 4 days following a single total exposure to X-irradiation in a dose of 50 or 300 r the nuclear diameters and volumens were increased (except the bone marrow lymphoid cell population). It reflects the injury of micro-lymphocytes after the total body X-irradiation, and activation of the nuclear metabolism of the radioresistant lymphocytes.

О КЛАССИФИКАЦИИ ЛИМФОЦИТОВ

Е. П. Лушиков, Ю. П. Хуссар
Кафедра анатомии и гистологии
Тартуского государственного университета

В изучении биологии лимфоидной ткани, несомненно, большое значение имеет вопрос классификации лимфоидных клеток. В настоящее время имеется ряд генетических, морфофункциональных, кинетических и других классификаций.

Генетическая классификация лимфоцитов

По современным представлениям гистогематологии, развиваемым еще А. А. Максимовым [3], все лимфоидные клетки развиваются из единой омни-(поли-)потентной родоначальной клетки. Эта клетка в настоящее время называется стволовой кроветворной клеткой, предшественником лимфоидного ряда — СКК или же колониеобразующей лимфоидной клеткой — КОЕл [6]. Эти клетки дифференцируются по стволовой линии до зрелой функционирующей клетки в одной и той же основной форме малого лимфоцита; эти клетки морфологически ничем не отличаются друг от друга. На различных уровнях гистогенезов и степени дифференцировки лимфоидные клетки имеют различные генетические потенции, способность к пролиферации, свойства и т. д. Все это позволяет популяцию развивающихся лимфоидных клеток, как и все ростки кроветворения, разделить на 6 классов: 1—3 (полипотентные, частично детерминированные и унипотентные предшественники); 4—6 (пролиферирующие, созревающие и зрелые клетки) [5].

Морфологическая классификация лимфоцитов

Согласно этой весьма распространенной классификации, принятой также и во всех учебных пособиях, лимфоциты делятся на

большие, средние и малые. Последние, как уже было сказано, представляют собой основную массу лимфоидных клеток. При этом в течение длительного времени большие и средние лимфоциты считали менее дифференцированными, интенсивно пролиферирующими, а малые, наоборот, зрелыми непролиферирующими клетками [8, 9, 10, 11, 12, 13, 14]. Однако в 50-х годах, в связи с развитием метода автордиографии и новых способов культивирования лимфоидных клеток, вновь подтвердились представления А. А. Максимова о мультипотентности малого лимфоцита. Размеры лимфоидных клеток не характеризуют степень их дифференцировки; большие, средние и малые лимфоциты в центральных лимфоидных органах являются лишь представителями различных фаз митотического цикла [4].

Кинетическая классификация лимфоцитов

Популяционная кинетика ткани учитывает, как известно, участие ее клеток в пролиферации и дифференцировке. Согласно кинетической классификации лимфоциты делятся на быстро- и медленнообновляющиеся. По нашим данным, полученным на морских свинках после многократного введения H^3 -тимидина в течение 4-х суток, количество быстрообновляющихся лимфоцитов в костном мозге составляет 55%, в корковом веществе тимуса — 46%, в мозговом — 14% и в Т-клеточной зоне лимфатического фолликула селезенки — 19%.

Функциональная (иммунологическая) классификация лимфоцитов.

Вся периферическая лимфоидная система делится на тимус-зависимую (Т-клеточную), ответственную за трансплантационный иммунитет, и тимус-независимую (В-клеточную), ответственную за гуморальный иммунитет. Лимфоидные клетки соответствующих зон называются Т- и В-клетками [7]. Т-клетки, в свою очередь, разделяются на T_1 , T_2 и другие формы [1, 2].

Кроме приведенных выше основных классификаций имеется еще ряд гистохимических и других классификаций, зависящих от перечисленных.

* *
*

В заключение можно сказать, что знание и комплексный учет приведенных основных генетических и морфологических классификаций позволяет по-новому рассмотреть и оценить особенности и свойства различных лимфоидных клеток в изучении проблемы биологии лимфоидной ткани.

ЛИТЕРАТУРА

1. Брондз Б. Д. Клеточные основы иммунологического распознавания. I. Соотношения и кооперативные взаимодействия между субпопуляциями Т- и В-лимфоцитов в ходе первичного иммунологического распознавания. Усп. совр. биол., 1977а, 84, 2, 219—235.
2. Брондз Б. Д. Клеточные основы иммунологического распознавания. II. Соотношения между субпопуляциями эффекторных Т-лимфоцитов. Усп. совр. биол., 1977б, 84, 3, 390—409.
3. (Максимов А. А.) Maximow, A. Bindegewebe und blutbildende Gewebe. Hndb. mikrosk. Anat. Menschen. Bd. 2. Berlin, 1927, 232—564.
4. Хуссар Ю. П. Количественный экспериментально-гистологический анализ лимфоидной ткани в норме и при радиационном поражении. Автореф. дисс. докт. мед. наук, Тарту, 1972.
5. Чертков И. Л. и Воробьев А. И. Современная схема кроветворения. Пробл. гематол., 1973, 18, 10, 3—13.
6. Чертков И. Л. и Фриденштейн А. Я. Клеточные основы кроветворения. М., Медицина, 1977.
7. Bugnet, F. M. Cellular Immunology. Melbourne. Cambridge, 1969.
8. Kindred, J. E. A quantitative study of the lymphoid organs of the albino rat. Am. J. Anat., 1938, 62, 453—473.
9. Kindred, J. E. A quantitative study of the hemopoietic organs of young albino rats. Am. J. Anat., 1940, 67, 99—149.
10. Kindred, J. E. A quantitative study of the hemopoietic organs of the young albino rats. Am. J. Anat., 1942, 71, 207—243.
11. Kindred, J. E. Quantitative studies on lymphoid tissues. Ann. N. Y. Ac. Sci., 1955, 59, 5, 746—756.
12. Sainte-Marie, G. a. Leblond, C. P. Tentative Pattern for Renewal of Lymphocytes in Cortex of the Rat Thymus. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1958а, 97, 263—270.
13. Sainte-Marie, G. a. Leblond, C. P. Origin and Fate of Cells in the Medulla of Rat Thymus. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1958б, 98, 909—915.
14. Yoffey, J. M. a. Courtice, F. C. Lymphatics, lymph and lymphoid tissue. Harvard Univ. Press. Cambridge, Massachusetts, 1956.

ON THE CLASSIFICATION OF THE LYMPHOCYTES

J. Luschikov, a. O. Hussar

Summary

There are 4 famous classifications of the lymphoid cells-genetic, morphological, kinetic and functional (immunological). Genetically lymphoid cells are divided into groups of stem cells, semi-stem cells, determinated precursors, dividing, differentiated and maturated cells. Morphologically lymphoid cells are separated into large, medial and small size cells; kinetically — long-lived and short-lived cells; immunologically — into T- and B-cells (dealed with T-cell-mediated and B-cell-mediated immunity accordingly).

СУТОЧНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СИНТЕЗА ДНК В АДЕНОГИПОФИЗЕ КРЫС ПРИ РЕАКЦИИ СТРЕСС

В. К. Перт

Кафедра физиологии Тартуского государственного университета

В ряде работ [5, 6, 7] радиоавтографическими методами изучались изменения числа клеток аденогипофиза, синтезирующих ДНК в зависимости от пола, возраста и гормонального состояния. Имеются данные и о том, что синтез ДНК в аденогипофизе, как и многие другие проявления жизнедеятельности организма, подчинен суточным колебаниям [2, 3]. Значительный интерес представляют суточные изменения синтеза ДНК в указанном органе при стрессе, вызываемом различными факторами, так как морфологические проявления адаптационных процессов прежде всего касаются изменений в гипофиз-адреналовой системе. Данные Б. И. Монастырской [2] показывают, что, наряду с общим неспецифическим действием, различные стрессоры имеют и некоторое специфическое влияние на гипофизарную реакцию. В настоящей работе при помощи H^3 -тимидина изучены суточные колебания синтеза ДНК в аденогипофизе крыс в норме и при стрессе, вызываемом введением формалина.

Опыты поставлены на 60 белых беспородных крысах-самцах весом 170—250 г во время весеннего равноденствия (животные находились в условиях естественного освещения). Крысы были разделены на 2 группы по 30 животных в каждой: 1-ая группа служила контролем, а у животных 2-ой группы вызвали стресс — реакцию при помощи 6%-ного раствора формалина, который вводили внутривентрально ежедневно в течение 4 дней. Разовые дозы были соответственно 0,25 мл, 0,25 мл, 0,5 мл и 0,5 мл. Крыс 2-ой группы умерщвляли через 72 часа после последней инъекции формалина. Животные обеих групп были забиты путем декапитации в 12, 16, 20, 24, 4 и в 8 часов (по 5 крыс в каждый срок). H^3 -тимидин, из расчета 1 мккюри на 1 г веса животного, вводили всем крысам внутривентрально за 2 часа до умерщ-

вления. Аденогипофизы фиксировали в жидкости Карнуа и парафиновые срезы толщиной 6 мк подвергали обычной гистологической и гистоавтордиографической обработке (1) с применением эмульсии типа М. Индекс мечения (ИМ) на 1000 клеток вычисляли при помощи гистотопограмм (4) без дифференциации отдельных клеточных форм железы.

В таблице приведены цифровые данные, касающиеся интенсивности включения H^3 -тимидина в ядрах клеток аденогипофиза у крыс обеих групп в различные часы суток.

Т а б л и ц а

ИМ крыс 1-ой и 2-ой групп (в ‰)

Время суток	1-ая группа	2-ая группа
12	$1,34 \pm 0,32$	$0,84 \pm 0,12$
16	$1,00 \pm 0,17$	$0,66 \pm 0,12$
20	$0,82 \pm 0,06$	$0,08 \pm 0,05$
24	$0,54 \pm 0,17$	$0,04 \pm 0,03$
4	$1,31 \pm 0,31$	$0,14 \pm 0,08$
8	$0,68 \pm 0,15$	$0,01 \pm 0,005$
В среднем:	$0,95 \pm 0,01$	$0,29 \pm 0,005$

Среднесуточный ИМ интактных животных равняется $0,95 \pm 0,01\%$. Несмотря на большой размах варьирования данных в отдельные изученные сроки, на кривой, изображающей суточную динамику синтеза ДНК (рис. 1), все-таки можно выделить две точки с повышенной синтетической активностью (в 12 и в 4 часа).

Существование двух подъемов митотической активности в аденогипофизе крыс в течение суток описывают Nouët и Kujas [8].

В условиях формалинового стресса синтез ДНК в клетках железы резко подавляется (рис. 1). Среднесуточный ИМ стрессированных крыс достоверно различается ($p < 0,001$) от среднесуточного ИМ интактных крыс ($0,29 \pm 0,005\%$). Суточный ритм синтеза ДНК при этом полностью сохраняется, хотя второй подъем интенсивности связывания H^3 -тимидина (в 4 часа) менее выражен.

Результаты нашей работы подтверждают данные литературы [2, 3] о том, что в различные часы суток клетки аденогипофиза интактных крыс синтезируют ДНК с различной интенсивностью. После воздействия на организм чрезвычайных раздражителей развивается состояние стресса, при котором изменяется функциональное напряжение аденогипофиза. В этих условиях изменя-

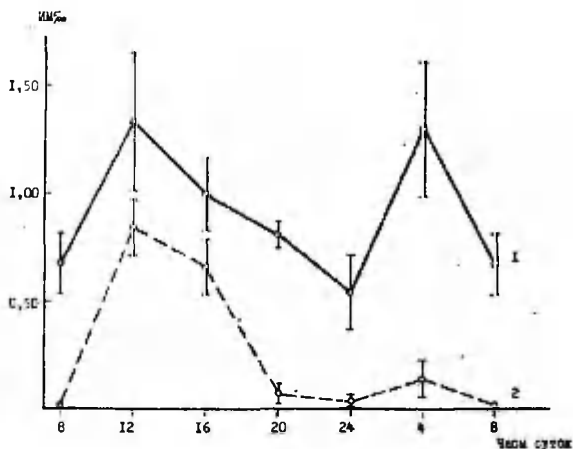


Рис. 1. Суточная динамика синтеза ДНК в аденогипофизе. 1 — у крыс 1-ой группы, 2 — у крыс 2-ой группы.

ется и пролиферативная активность клеток этого органа. Известно, что процессы саморепродукции активизируются при спаде активности железы и несколько тормозятся на ее высоте [2]. Можно предположить, что наши данные получены именно в той стадии стресса, которая характеризуется подавлением пролиферативных процессов в аденогипофизе. Следует подчеркнуть то обстоятельство, что суточный ритм синтеза ДНК остался в нашем опыте без изменений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жинкин Л. Н. В кн.: Радиоактивные индикаторы в гистологии. Л., 1959.
2. Монастырская Б. И. Аденогипофиз. Л., 1974.
3. Силина А. Г. — Арх. анат. гистол. и эмбриол., 1975, в. 4, с. 80—82.
4. Труупыльд А. Ю. — Арх. анат. гистол. и эмбриол., 1973, в. II, с. 59—66.
5. Crane, W. A., Loomes, R. S. Brit. J. Cancer., 1967, 21, 4, 787—792.
6. Hunt, T., Hunt, E. Anat. Rec., 1967, 156, 4, 361—367.
7. Нумер, W. Science, 1967, 167, 3925, 1629—1631.
8. Nouët, J. C., Kujas, M. Cell Tiss. Res., 1975, 164, 2, 193—200.

DAILY CHANGES OF DNA SYNTHESIS IN THE ADENOHYPOPHYSIS OF THE RAT IN STRESS CONDITION

V. Pert

Summary

The DNA synthetic activity in the adenohypophysis of male rats during a 24-hour cycle has been studied at the time of the spring equinox. We found two peaks of high activity. The first one takes place at 12 o'clock with an index reaching 0,94‰, the second one occurs at 4 o'clock and its index is 0,29‰. The stress evoked by formalin causes the decrement of DNA synthesis in adenohypophysis while the normal diurnal rhythm of DNA synthesis remains unchanged.

О ВЛИЯНИИ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИИ МИНДАЛЕВИДНОГО КОМПЛЕКСА НА ВАЗОМОТОРИКУ ГОЛОВНОГО МОЗГА

А. В. Ипрус-Шоттер, П. О. Роосаар

Центральная медицинская научно-исследовательская лаборатория
Тартуского государственного университета

На основе наших предварительных опытов [1, 2, 3, 4] мы поставили гипотезу и возможном противоположном характере действия гипоталамуса и миндалевидного комплекса на величину просвета микрососудов (артериол, прекапилляров, капилляров, венул) головного мозга. Для подтверждения (или опровержения) этой гипотезы и, учитывая возможность функциональной мозаичности в рамках одной и той же структуры, была проведена работа, в ходе которой раздражали различные ядра гипоталамуса и миндалевидного комплекса и после этого регистрировали изменения просвета мозговых микрососудов. Результаты стимуляции гипоталамуса [3] подтвердили наше мнение о том, что раздражение гипоталамуса вызывает вазодилататорную реакцию со стороны мозговых микрососудов. Результаты стимуляции миндалевидного комплекса приводятся в настоящей работе.

Опыты с электростимуляцией проводились на 31 кролике: 24 — со стереотаксически вживленными электродами в раздражаемых ядрах, 7 — контрольная группа. Кроликов брали в опыт на 7—10-й день после стереотаксической операции. Опыт проводился под уретановым наркозом (1 г/кг в/м за час до начала опыта). В качестве раздражителя применяли прямоугольный импульсный ток параметрами: 0,5 мсек., 60 гц, 1 в. Длительность стимуляции: 6 раз по 50 сек. с 10-секундным интервалом после каждой 50-секундной стимуляции.

На шестой минуте стимуляции в течение 50 сек. в общую сонную артерию вводили 2 мл фиксирующей жидкости (нигрозин — 10%, желатин 4,3%, фенол — 0,9%, дист. вода — 84,8%) и в течение 30 сек. в ушную вену 5 мл насыщенного раствора калия

хлорида для срочной остановки сердца. Мозг извлекали, погружали в 15%-ный раствор формалина на 48 часов и затем резали на замораживающем микротоме на срезы толщиной 25 микронов. Срезы окрашивались гемолоауком и тионином и исследовались с помощью иммерзионного объектива под увеличением 90×7 . С помощью шкалы окуляра измеряли внутренний диаметр всех микрососудов.

Стимуляции подвергали следующие ядра миндалевидного комплекса:

- AB — nucleus basalis amygdalae
- AC — nucleus centralis amygdalae
- AL — nucleus lateralis amygdalae
- AME — nucleus medialis amygdalae

Измерение просвета микрососудов проводилось в следующих структурах:

- CT — cortex temporalis
- CM — cortex motorius
- VL — nucleus ventralis lateralis thalami
- MD — nucleus mediodorsalis thalami
- LA — nucleus lateralis anterior thalami
- VA — nucleus ventralis anterior thalami
- NFS — nucleus fimbrialis septi
- NSL — nucleus septalis lateralis
- AHL — area hypothalamica lateralis
- ANA — area hypothalamica anterior
- HDM — nucleus dorsomedialis hypothalami
- HVM — nucleus ventromedialis hypothalami
- NHP — nucleus hypothalamicus posterior
- AAA — area amygdalaris anterior
- AME — nucleus medialis amygdalae
- ACO — nucleus corticalis amygdalae
- AB — nucleus basalis amygdalae
- AC — nucleus centralis amygdalae
- HV — pars ventralis hippocampi
- HD — pars dorsalis hippocampi
- GP — globus pallidus

Результаты измерений подвергали статистической обработке. Средние величины диаметров микрососудов отдельных мозговых структур в различных опытных группах сравнивали с помощью *t*-таблицы.

Результаты опытов

В новой коре при стимуляции ядер миндалевидного комплекса происходила вазоконстрикция. В CM изменения были во всех группах выражены в статистически достоверной степени ($p < 0,05$). В CT статистически достоверная вазоконстрикция происходила только при стимуляции AL, в остальных группах была незначительна или практически отсутствовала (табл. 1).

Таблица 1

**Величина просвета микрососудов (в ед. ок.) в новой коре
при стимуляции ядер миндалевидного комплекса**

Измеряемая структура	Контроль-ная группа	Стимулируемые ядра			
		AB	AC	AL	AME
СТ	1,89±0,06	1,85±0,05	1,78±0,23	1,70±0,08*	1,90±0,12
СМ	2,14±0,13	1,78±0,04*	1,78±0,16*	1,76±0,13*	1,82±0,12*
Вместе	2,01±0,08	1,81±0,05*	1,78±0,19	1,73±0,11*	1,86±0,12

Вся серия: 7,8±0,13

Обозначение (здесь и в дальнейшем):
ед. ок. — единицы окуляра.

- * — изменение при $p < 0,05$.
** — изменение при $p < 0,01$.

Если оценивать эффект стимуляции отдельных ядер миндалевидного комплекса в отношении СТ и СМ вместе, то во всех группах выявляется статистически достоверная или почти достоверная вазоконстрикция. То же самое при сравнении всей серии с контролем.

В зрительном бугре при стимуляции ядер миндалевидного комплекса наблюдалась вазоконстрикция в 12 группах из 16, хотя она никогда не достигала статистически достоверной степени, и в некоторых случаях была минимальна (табл. 2).

Таблица 2

**Величина просвета микрососудов (в ед. ок.) в зрительном бугре
при стимуляции ядер миндалевидного комплекса**

Измеряемая структура	Контроль-ная группа	Стимулируемые ядра			
		AB	AC	AL	AME
VL	1,86±0,09	2,02±0,24	1,69±0,07	1,86±0,23	1,71±0,03
VD	1,74±0,07	1,63±0,10	1,73±0,01	1,87±0,13	1,92±0,08
LA	1,75±0,15	1,66±0,15	1,65±0,04	1,76±0,05	1,68±0,04
VA	1,75±0,08	1,74±0,04	1,67±0,06	1,69±0,08	1,62±0,04
Итого:	1,78±0,03	1,79±0,14	1,69±0,02*	1,78±0,05	1,73±0,07

Вся серия: 1,74±0,03

Наибольшее вазоконстрикторное действие оказывала стимуляция АС, в случае которого в миндалевидном комплексе, взятом целиком, наблюдалось сужение просвета в статистически достоверной степени ($p < 0,05$).

В гипоталамусе при стимуляции ядер миндалевидного комплекса наблюдалась вазоконстрикция в 14 группах из 20, но вследствие вариабельности результатов конкретных измерений ошибка арифметической средней получилась сравнительно велика и изменения просвета не достигали статистически достоверной степени (табл. 3).

Таблица 3

Величина просвета микрососудов (в ед. ок.) в гипоталамусе при стимуляции ядер миндалевидного комплекса

Измеряемая структура	Контрольная группа	Стимулируемые ядра			
		AB	AC	AL	AME
АНЛ	1,81±0,11	1,73±0,12	1,78±0,03	1,70±0,08	1,77±0,11
АНА	1,78±0,16	1,78±0,02	1,78±0,05	1,67±0,09	1,85±0,16
НДМ	1,79±0,17	1,68±0,09	1,69±0,03	1,73±0,06	1,83±0,11
НУМ	1,82±0,06	1,65±0,10	1,79±0,09	1,84±0,04	1,84±0,04
ННР	1,76±0,09	1,66±0,11	1,67±0,12	1,75±0,10	1,72±0,09
Итого:	1,79±0,03	1,70±0,03**	1,74±0,03	1,74±0,03	1,80±0,03

Вся серия: 1,75±0,02

Если оценивать вазоконстрикторный эффект стимуляции отдельных ядер миндалевидного комплекса по отношению к гипоталамусу в целом, то в группе стимуляции АВ (1,70±0,03) проявляется разница по сравнению со средней контрольной группы (1,79±0,03) в статистически достоверной степени при $p < 0,01$.

В прозрачной перегородке при стимуляции ядер миндалевидного комплекса в большинстве случаев происходит некоторая вазоконстрикция (за исключением в NFS при стимуляции АВ и в NSL при стимуляции АМЕ) (табл. 4).

Как видно, при стимуляции АМЕ в NFS наблюдалась вазоконстрикция с достоверностью при $p < 0,01$, что бросается в глаза на фоне общего слабовыраженного эффекта. Возможно, что имеем дело с вазоактивным ядром, но так как микрососуды перегородки сравнительно плохо заполнялись контрастным веществом, а это затрудняло проведение измерений, не исключена и возможность ошибки.

В гиппокампе при стимуляции ядер миндалевидного комплекса наблюдалась вазоконстрикция как в НУ, так и в НД,

Таблица 4

Величина просвета микрососудов (в ед. ок.) в прозрачной перегородке при стимуляции ядер миндалевидного комплекса

Измеряемая структура	Контрольная группа	Стимулируемые ядра			
		AB	AC	AL	AME
NFS	1,80±0,06	1,86±0,07	1,68±0,05	1,64±0,05	1,61±0,07**
NSL	1,82±0,12	1,74±0,13	1,76±0,06	1,64±0,06	1,87±0,11
Итого:	1,79±0,10	1,79±0,10	1,72±0,06	1,64±0,06	1,74±0,10

Вся серия: 1,73±0,04

Таблица 5

Величина просвета микрососудов (в ед. ок.) в гиппокампе при стимуляции ядер миндалевидного комплекса

Измеряемая структура	Контрольная группа	Стимулируемые ядра			
		AB	AC	AL	AME
HV	1,93±0,11	1,82±0,14	1,57±0,07*	1,75±0,10	1,51±0,04*
HD	1,76±0,12	1,70±0,14	1,66±0,02	1,56±0,09	1,50±0,03*
Итого:	1,85±0,11	1,76±0,14	1,61±0,05*	1,84±0,10	1,51±0,04*

Вся серия: 1,63±0,04 **

причем в 3 группах из 8-и она была выражена со статистической достоверностью (табл. 5).

Если оценивать вазоконстрикторный эффект стимуляции отдельных ядер миндалевидного комплекса по отношению к гиппокампу в целом (HV и HD вместе), то он проявлялся в статистически достоверной степени в группах стимуляции AC и AME. При сравнении средней величины просвета микрососудов всей опытной серии с таковой контрольной группы, получаем разницу при $p < 0,01$.

В миндалевидном комплексе при стимуляции его ядер наблюдался наибольший вазоконстрикторный эффект по сравнению с другими исследованными структурами. Хотя здесь оценке результатов мешал вживленный электрод с коагуляционной зоной, можно было констатировать вазоконстрикцию почти во всех группах, а в 5-и группах из 24-х была она выражена в статистически достоверной степени ($p < 0,05$) (табл. 6).

Если оценивать вазоконстрикторный эффект отдельных ядер миндалевидного комплекса в отношении всего миндалевидного

Таблица 6

Величина просвета микрососудов (в ед. ок.) в миндалевидном комплексе при стимуляции ядер миндалевидного комплекса

Измеряемая структура	Контрольная группа	Стимулируемые ядра			
		AB	AC	AL	AME
AAA	1,99±0,14	1,79±0,12	1,76±0,04*	1,81±0,08	1,88±0,12
AME	1,84±0,05	1,65±0,10*	1,75±0,05	1,84±0,08	1,63±0,08*
ACO	1,82±0,11	1,77±0,14	1,79±0,04	1,75±0,05	1,37±0,07
AL	1,92±0,09	1,70±0,14	1,63±0,14*	1,67±0,40	1,52±0,05*
AB	1,88±0,11	1,44±0,12	1,78±0,07	1,76±0,02	1,84±0,08
AC	1,88±0,11	1,66±0,11	1,78±0,07	1,86±0,09	1,74±0,10
Итого:	1,89±0,04	1,71±0,03*	1,74±0,01*	1,82±0,02	1,73±0,07*

Вся серия: 1,75±0,03*

комплекса в целом, то он проявлялся во всех группах, за исключением группы стимуляции AL, со статистической достоверностью. Разница с достоверностью при $p < 0,05$ выявляется и при сравнении средней величины просвета микрососудов всей данной опытной серии с таковой контрольной группы.

В бледном шаре при стимуляции ядер миндалевидного комплекса наблюдалась во всех случаях вазоконстрикция, но ни в одной группе она не была выражена в статистически достоверной степени (табл. 7).

Таблица 7

Величина просвета микрососудов (в ед. ок.) в бледном шаре при стимуляции ядер миндалевидного комплекса

Измеряемая структура	Контрольная группа	Стимулируемые ядра			
		AB	AC	AL	AME
GS	1,83±0,12	1,75±0,11	1,64±0,10	1,62±0,10	1,74±0,05

Вся серия: 1,69±0,09

Итак, вышеприведенные данные показывают, что стимуляция ядер миндалевидного комплекса вызывает в различных мозговых структурах в большинстве случаев более или менее выраженную вазоконстрикторную реакцию. Иногда эта реакция незначительна, иногда отсутствует, но никогда не является вазодилаторной. Следовательно, гипотеза о противоположном вазомоторном действии раздражения гипоталамуса и миндалевидного комплек-

са нашла подтверждения в наших опытах. Осуществляется ли эти реакция прямым неврогенным путем или через изменения системного артериального давления, газового состава крови или других показателей, будет предметом последующих исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ипрус-Шоттер А. В., Роосаар П. О. Изменение просвета мелких сосудов в гипоталамусе и миндалевидном комплексе при стимуляции этих структур. В кн.: Материалы конференции, посвященной 100-летию со дня рождения проф. Л. М. Пуусеппа. Тарту, 1975, с. 152—156.
2. Ипрус-Шоттер А. В., Роосаар П. О. Действие электростимуляции заднелатерального гипоталамуса и заднелатеральной амигдалы на просвет микрососудов в различных корковых и подкорковых структурах. В кн.: Актуальные вопросы патологической физиологии. Каунас, 1976, с. 61—63.
3. Ипрус-Шоттер А. В., Роосаар П. О. Исследование роли гипоталамуса в регуляции просвета микрососудов головного мозга. В кн.: Проблемы васкулярной патологии мозга и психофармакологии. Таллин, 1977, с. 8—9.
4. Роосаар П. О., Ипрус-Шоттер А. В. Изменение просвета мелких сосудов прозрачной перегородки, бледного шара и новой коры при электростимуляции гипоталамуса и миндалевидного комплекса. — Уч. зап. Тартуского гос. ун-та. Труды по медицине XXXV. Тарту, 1977, с. 55—57.

VASOMOTOR EFFECT OF THE AMYGDALOID COMPLEX

A. Uprus-Schotter, a. P. Roosaar

Summary

Changes of the diameter of the microvessels of the cortex, thalamus, septum pellucidum, hypothalamus, amygdala, hippocampus and globus pallidus during an electrical stimulation of different parts of the amygdaloid complex were studied. The injection technique with the subsequent freezing microtomy and microscopy of the frontal sections of the brain were used. The results showed in most cases a more or less distinct vasoconstrictive reaction.

ВОЗМОЖНОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ КОСТНОЙ ТКАНИ

Т. И. Хавико

Кафедра оперативной хирургии, топографической анатомии и ортопедии
Тартуского государственного университета

Изучение репаративной регенерации костной ткани — одна из актуальных проблем современной остеологии.

Как известно, характер и направленность репаративных процессов обусловлены многими факторами, основным из которых является кровоснабжение костного регенерата. Изучению микроциркуляции костной ткани в норме и патологии посвящено много работ [1, 2—6, 7, 8, 9, 10 и др.]. Однако из различных методик заполнения сосудов костной ткани и обработки препаратов наиболее совершенной является методика контактной микроангиографии и просветления срезов, разработанная в 1964 г. Я. Г. Дубровым и Г. А. Оноприенко [2].

Для контактной микроангиографии применяют 40%-ный раствор сульфата бария, содержащий в качестве стабилизатора 0,5%-ный раствор натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы. Ультразвуковое диспергирование вышеописанного контрастного вещества производится в магнитострикционной ванночке от ультразвукового генератора промышленного типа в течение 20 мин. при частоте 20 Кгц и акустической интенсивности 3—5 вт/см². В результате озвучивания получают мелкодисперсную суспензию, обладающую высокой степенью проникновения в сосудистое русло и способностью заполнения мельчайших сосудов костной ткани, в том числе прекапилляров.

При методике просветления срезов используют тушь-желатиновую смесь следующего состава: тушь черная, жидкая — 100 мл, вода — 100 г, желатин — 10 г. Данная смесь при введении заполняет преимущественно капилляры.

Заполнение сосудистой системы контрастной массой, или

тушь-желатиновой смесью производится через канюлю, введенную в аорты или магистральную артерию конечности после забоя экспериментального животного путем передозировки барбитуратов. Предварительно выполняют гепаринизацию крови — из расчета 1 мл гепарина на 1 л предполагаемого объема циркулирующей крови. Инъекция осуществляется в течение 15—20 мин. с помощью банки Боброва или закрытой бутылки, снабженной манометром, при постоянном давлении 120—200 мм рт. ст. Полноту заполнения определяют по вытеканию вливаемой жидкости через канюлю, введенную в нижнюю полую вену или магистральную вену конечности.

После прекращения вливания исследуемые кости препарируют от окружающих их тканей, за исключением надкостницы и тонкого мышечного слоя. Для получения микроангиограммы декальцинированные кости обезвоживают в восходящем ряде спиртов, заливают в целлоидин и фиксируют на блоках. Микроангиография послойных срезов толщиной 2—4 мм производится с помощью Букки-лучей рентгенотерапевтического аппарата РУМ-7 на пленке «Микрат-300». Полученные микроангиограммы изучают под микроскопом МБС-2 или по фотоснимкам после проекционного увеличения. Просветление декальцинированных костных срезов толщиной 100—200 микрон (после заливки сосудистой сети тушь-желатиновой смесью) производится путем их проведения через следующие растворы: 3%-ный раствор перекиси водорода, метиловый эфир салициловой кислоты, спирт-эфирная смесь 1 : 1, 96° спирт, ксилол. После этого срезы заключаются в канадский бальзам и изучаются под микроскопом МБС-2 при малом увеличении.

Используя данную методику исследования в Рижском научно-исследовательском институте травматологии и ортопедии, автор настоящей работы в эксперименте на 33 кроликах исследовал ангиоморфологию костной ткани в норме и при удлинении бедренной кости методом дистракционного эпифизеолиза. Удлинение конечности составляло 0,3—20 мм. Одновременно проводились гистологические и гистохимические исследования.

Васкуляризация трубчатой кости в норме осуществляется из трех основных источников — питательной, метафизарной и эпифизарной артериальной систем. Питательная артерия, после прохождения через кортикальный слой, разделяется на восходящую и нисходящую артерии, дающие радиальные ветви кортикальному слою, а терминальные — концам кости. Артериальное кровоснабжение метаэпифизарной области осуществляется через метафизарные и эпифизарные сосуды. Периостальная васкуляризация в норме имеет второстепенное значение.

Микроангиографическая картина удлинённого отдела бедренной кости показывала наиболее раннюю васкуляризацию регенерата периостальными и в меньшей степени — метафизарными

и эпифизарными артериальными сосудами. Следует считать, что хорошая васкуляризация обеспечивает оптимальные условия для костной регенерации, особенно в период дифференциации клеточных элементов.

Об активном остеогенезе в таком случае свидетельствует большое количество остеобластов, расположенных по краям костных балочек, а также присутствие нейтральных мукополисахаридов в регенерате и надкостнице. В условиях равномерной васкуляризации, которая обеспечивается медленной дистракцией, регенерация костной ткани происходит ангиогенно. Наоборот, стойкие нарушения микроциркуляции, обусловленные нарушением оптимального режима растяжения кости, ведут к изменениям кислородного баланса регенерата. Нарушение циркулярно-метаболического равновесия ведет к образованию в регенерате хрящевой ткани. В таком случае костная регенерация на месте удлинения происходит более медленно.

Таким образом, процессы костеобразования находятся в прямой зависимости от артериальной капилляризации регенерирующих тканей, которой обеспечивается необходимый уровень метаболических процессов.

Изучение ангиоморфологии костного регенерата методами микроангиографии и просветления срезов является перспективным в экспериментальной остеологии, наряду с другими методами исследования микроциркуляции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Стецула В. И. Материалы сессии ЦИТО с институтами травматологии, ортопедии и протезирования Украины, посвященной 60-летию института им. проф. М. И. Ситенко. Харьков, 1967, с. 141—144.
2. Дубров Я. Г., Оноприенко Г. А. Отропед. травматол., 1968, 8, с. 56—59.
3. Дубров Я. Г., Оноприенко Г. А. Вести. рентгенол., 1969, 6, с. 31—35.
4. Дубров Я. Г., Оноприенко Г. А. В кн.: Методики по диагностике, лечению и профилактике заболеваний, разработанные и усовершенствованные в МОНИКИ. М., 1970, с. 78—80.
5. Дубров Я. Г., Оноприенко Г. А. Арх. анат., 1974, 1, с. 89—94.
6. Дубров Я. Г., Оноприенко Г. А., Штернберг А. А. В кн.: Микроциркуляция в патологии. Труды МОНИКИ, т. VI. М., 1975, с. 170—174.
7. Стахеев И. А. Реваскуляризация костных трубчатых ауто-, гомо- и гетеротрансплантатов при пластике обширного диафизарного дефекта большеберцовой кости (экспериментальное исследование). Дисс. докт., Свердловск, 1975.
8. Trueta, J. J. Bone Joint Surg., 1958, 40-B, 1, 154—155.
9. Brookes, M., J. Bone Joint Surg., 1960, 42-B, 1, 110—125.
10. Rhinelander, F. W., Baraggy, R. A. J. Bone Joint Surg., 1962, 44-A, 7, 1273—1298.

ON THE POSSIBILITIES OF EXPERIMENTAL RESEARCH OF MICROCIRCULATION OF BONE TISSUE

T. Haviko

Summary

The present paper discusses the possibilities of experimental research of microcirculation in the perfusion of tubular bones with the solution of barium sulphate and Indian ink. Rabbits' normal blood circulation and its peculiarities in experimental lengthening of their limbs by the distraction of the epiphyseal plate have been studied.

It has been found that the formation of bone tissue is directly connected with the arterial capillarisation of the regenerating tissues which ensure the necessary level of metabolic processes.

ОГЛАВЛЕНИЕ — CONTENTS — INHALT

Ю. Э. Аренд, В. А. Силласту, Т. Ю. Торпате, А. Ю. Труупыльд. О влиянии двусторонней энуклеации надпочечников на репаративную регенерацию соединительной ткани в ране печени у белых крыс	3
U. Arend, V. Sillastu, T. Torpats, A. Truupõld. On the influence of the bilateral enucleation of the suprarenal gland on the reparative regeneration of the connective tissue of the liver wound in white rats. <i>Summary</i>	6
А. Ю. Труупыльд, Т. Н. Труупыльд, Ю. Э. Аренд. О репаративной регенерации коры энуклеированных надпочечников при одновременном повреждении печени у крыс	7
A. Truupõld, T. Truupõld, U. Arend. On cortical reparation of enucleated adrenals in the rats with simultaneous liver wound. <i>Summary</i>	13
А. Ю. Труупыльд, Т. Н. Труупыльд, Ю. Э. Аренд. О митотической активности клеток аденогипофиза в условиях повреждения надпочечников и печени	14
A. Truupõld, T. Truupõld, U. Arend. On mitotic activity of cells in the adenohiphysis in conditions of adrenal and hepatic injuries. <i>Summary</i>	20
Ю. П. Хуссар, У. Я. Подар, Ю. Э. Аренд, А. Ю. Труупыльд. Гистологические изменения лимфоидной ткани тимуса и извитых канальцев семенника белых крыс при повреждении надпочечников и печени	21
O. Hussar, U. Podar, U. Arend, A. Truupõld. The histological changes of the lymphoid tissue of the thymus and germinal epithelium of the testis in male rats after the injuring of the adrenal gland and liver. <i>Summary</i>	26
М. Каартинен, Ю. П. Хуссар. К иммуноморфологическому изучению Т-клеточной защитной системы у мышей. I. Метод кожного теста в исследовании реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ)	27
M. Kaartinen, U. Hussar. On the immunomorphological investigation of the dell-mediated immunity ly mice. I. Modified skin test as a method for investigation of the development of the delayed-type hypersensitivity (DTH). <i>Summary</i>	
Ю. П. Хуссар, М. Каартинен. К иммуноморфологическому изучению Т-клеточной защитной системы у мышей. II. Применение препаратов семейства РАТ и некоторых липидных конъюгатов в изучении реакции гиперчувствительности замедленного типа (предварительное сообщение)	35
U. Hussar, M. Kaartinen. On the immunomorphological investigation of the cell-mediated immunity in mice. II. Studies of the delayed-type hypersensitivity (DTH) response using RAT and some lipid conjugates with hapten (Preliminary report). <i>Summary</i>	41

Ю. П. Хуссар, Я. В. Алаотс. Некоторые ранние постэмбриональные гистологические изменения селезенки цыплят	42
U. Hussar, J. Alaots. Some early postembryonal histological changes of the spleen in chickens. <i>Summary</i>	46
Ю. П. Хуссар, Н. Д. Чхолария. К изучению интенсивности белкового обмена в лимфоидной ткани тимуса и мезентериального лимфатического узла у мышей СВА в норме и при стафилококковой интоксикации	47
U. Hussar, N. Tschkolaria. On the protein turnover intensity in the lymphoid tissue of the CBA mouse thymus and mesenterial lymph node in normal animals and after Staphylococcal intoxication. <i>Summary</i>	51
Ю. П. Хуссар, Е. П. Лущиков. Некоторые спорные вопросы строения, гистогенетических потенций и свойств стволовой кроветворной клетки (СКК), колониеобразующей единицы (КОЕ) и малого лимфоцита костного мозга	52
U. Hussar, J. Luschkov. On the structure, potencies and character of the stem cell (SC), colony forming units (CFU) and bone marrow small lymphocytes. <i>Summary</i>	61
Е. П. Лущиков, Ю. П. Хуссар. Кариометрические изменения лимфоидной популяции центральных и периферических лимфоидных органов у морских свинок при общем рентгеновском облучении	62
J. Luschkov, U. Hussar. Size distribution changes in central and peripheral lymphocytes of the guinea pigs after total body x-irradiation. <i>Summary</i>	68
Е. П. Лущиков, Ю. П. Хуссар. О классификации лимфоцитов	69
J. Luschkov, U. Hussar. On the classification of the lymphocytes. <i>Summary</i>	71
В. К. Перт. Суточные изменения синтеза ДНК в аденогипофизе крыс при реакции стресс	72
V. Pert. Daily changes of DNA synthesis in the adenohypophysis of the rat in stress conditions. <i>Summary</i>	75
А. В. Ипрус-Шоттер, П. О. Роосаар. О влиянии электростимуляции миндалевидного комплекса на вазомоторику головного мозга	76
A. Uprus, Schotter, P. Roosaar. Vasomotoric effect of the amygdaloid complex. <i>Summary</i>	82
Т. И. Хавико. Возможности экспериментального исследования микроциркуляции костной ткани в эксперименте	83
T. Haviko. On the possibilities of experimental research of microcirculation of bone tissue. <i>Summary</i>	86

О влиянии двусторонней энуклеации надпочечников на репаративную регенерацию соединительной ткани в ране печени у белых крыс. Аренд Ю. Э., Силласту В. А., Торпатс Т. Ю., Труупыльд А. Ю. — Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 498. Труды по медицине XLI, 1979, с. 3—6.

На 88 молодых половозрелых крысах-самцах в опытах продолжительностью 1—30 дней гистологическими исследованиями установлено, что двусторонняя энуклеация надпочечников оказывает лишь слабое влияние на пролиферацию соединительной ткани в ране печени. В 3- и 12-дневных опытах наблюдается некоторая стимуляция регенераторных процессов соединительной ткани.

Результаты работы показали, что возможно одновременное использование двух экспериментальных моделей — двусторонняя энуклеация надпочечников и рана печени от прижигания — у одних и тех же животных для изучения регенеративных процессов параллельно в двух органах.

Библ. — 8; илл. — 2.

О репаративной регенерации коры энуклеированных надпочечников при одновременном повреждении печени у крыс. Труупыльд А. Ю., Труупыльд Т. Н., Аренд Ю. Э. — Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 498. Труды по медицине XLI, 1979, с. 7—13.

Изучена репаративная регенерация коркового вещества через 1, 3, 6, 12 и 30 суток после двусторонней энуклеации надпочечников у белых крыс в условиях одновременной регенерации раны печени. Установлено, что увеличение площади адренокортикальной ткани в ходе восстановления идет совершенно одинаково у контрольных животных, с одной стороны, и у животных, имеющих одновременно энуклеированные надпочечники и рану печени, с другой. Следовательно, одновременная регенерация соединительной ткани в ране печени не оказывает какого-либо существенного влияния на рост и развитие восстанавливающейся коры в энуклеированных надпочечниках.

Библ. — 10; табл. — 1; рис. — 4.

О митотической активности клеток аденогипофиза в условиях повреждения надпочечников и печени. Труупыльд А. Ю., Труупыльд Т. Н., Аренд Ю. Э. — Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 498. Труды по медицине XLI, 1979, с. 14—19.

Изучена митотическая активность клеток аденогипофиза через 1, 3, 6, 12 и 30 суток после двусторонней энуклеации надпочечников и после нанесения раны печени у белых крыс. Установлено, что: 1) после значительного поражения (энуклеации) коры надпочечников отмечается реактивное повышение пролиферативной активности клеток аденогипофиза, которое, однако, имеет место лишь в ранние сроки (3 и 6 суток) после операции, и 2) процесс регенерации раны печени не оказывает влияния на митотическую активность клеток аденогипофиза ни самостоятельно, ни в комбинации с энуклеацией надпочечников.

Библ. — 8; табл. — 1; рис. — 4.

Гистологические изменения лимфоидной ткани тимуса и извитых канальцев семенника белых крыс при повреждении надпочечников и печени. Хуссар Ю. П., Подар У. Я., Арэнд Ю. Э., Труупыльд А. Ю. — Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 498. Труды по медицине XLI, 1979, с. 21—26.

На 136 взрослых белых крысах-самцах изучали гистологические изменения лимфоидной ткани тимуса и извитых канальцев семенника через 1—30 суток после повреждения надпочечников (двусторонняя энуклеация) и печени (прижигание). Производилась стандартная гистологическая обработка материала.

Установлено, что повреждение надпочечников и печени вызывает во все сроки исследования весьма гетерогенную картину гистологических изменений. В одних случаях картина в тимусе мало отличается от контрольной, в других же случаях наблюдается или гиперплазия, или же гипоплазия лимфоидной ткани (до картины атрофии и инволюции). Тем не менее при двусторонней энуклеации надпочечников увеличиваются вес тимуса и количество тимолимфоцитов; митотическая активность лимфоцитов несколько подавлена. В извитых же канальцах семенника наблюдаются выраженные альтеративные изменения, не коррелирующие с повреждением надпочечников и печени по срокам исследования.

Библ. — 6, табл. — 5, рис. — 2.

К иммуноморфологическому изучению Т-клеточной защитной системы у мышей. I. Метод кожного теста в исследовании реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Каартинен М. и Хуссар Ю. — Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 498. Труды по медицине XLI, 1979, с. 27—32.

На 36 половозрелых линейных мышках-самцах (СВА и др.) исследовалось развитие реакции ГЗТ на повторное введение цыплячьего гамма-глобулина (ЦГГ). Использовался модифицированный кожный тест с последующей обработкой материала ¹²⁵I-уридином.

Установлено, что при развитии ГЗТ методом кожного теста можно весьма четко и убедительно (с учетом количественных показателей) определить специфическую Т-клеточную реакцию на месте вторичного введения антигена. В то же время метод отличается относительной простотой и он может быть применен не только в специализированных (иммунологических), но и в других (в том числе морфологических) кафедрах и лабораториях.

Библ. — 18; табл. — 1; рис. — 1.

К иммуноморфологическому изучению Т-клеточной защитной системы у мышей. II. Применение препаратов семейства RАТ и некоторых липидных конъюгатов в изучении реакции гиперчувствительности замедленного типа (предварительное сообщение). Хуссар Ю. П. и Каартинен М. — Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 498. Труды по медицине ХLI, 1979, с. 35—39.

На 196 половозрелых мышах-самцах (линии СВА и др.) методом кожного теста с последующей радиометрической обработкой материала изучили развитие реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) при иммунизации животных различными протеиновыми и липидными конъюгатами гаптена. В качестве радиоактивного изотопа использовали ^{125}I -уридин в дозе 2 мкСи/мышь внутривенно.

Установлено, что наиболее четкую реакцию ГЗТ вызывают липидные конъюгаты с гаптенами нитрофеноловой группы. В собственно коже и подкожной клетчатке отмечается выраженная мононуклеарная реакция. Резко увеличивается включение ^{125}I -уридина в эти клетки. Менее выражена реакция при иммунизации животных протеиновыми конъюгатами гаптенов группы АВА.

Полученные результаты в большой степени совпадают с теми, которые были получены на В-клеточной системе и позволяют считать, что в геноме должны иметь близкие локусы, ответственные за синтез Т- и В-клеточных рецепторов лимфоидных клеток.

Библ. — 21; табл. — 2; рис. — 3.

Некоторые ранние постэмбриональные гистологические изменения селезенки цыплят. Хуссар Ю. П. и Алаотс Я. В. — Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 498. Труды по медицине ХLI, 1979, с. 42—46.

На 75 цыплятах породы белый леггорн гистологически и автордиографически (H^3 -тимидин и H^3 -метионин) исследовали возрастные изменения цитоархитектоники, пролиферативной способности и степени дифференцировки лимфоидной ткани селезенки. Наблюдалось формирование основных морфофункциональных единиц белой пульпы селезенки — лимфатических фолликулов. На 4-ый день жизни появляются периваскулярные скопления лимфоидных клеток; на 20-ый день жизни из них формируются лимфатические фолликулы, окруженные соединительнотканной капсулой. Гистологическое формирование лимфоидной ткани сопровождается резким падением пролиферативной активности лимфоцитов и увеличением уровня белкового обмена.

Библ. — 10; табл. — 1; рис. — 4.

К изучению интенсивности белкового обмена в лимфоидной ткани тимуса и мезентериального лимфатического узла у мышей линии СВА в норме и при стафилококковой интоксикации. Хуссар Ю. П. и Чхолария Н. Д. — Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 498. Труды по медицине ХЛІ, 1979, с. 47—51.

На 27 взрослых мышах-самцах линии СВА гистоавторадиографически Н³-метионином (предшественником синтеза белка) исследовалась интенсивность белкового обмена в лимфоидной ткани тимуса и мезентериального лимфатического узла в норме и при интоксикации животных сублетальными дозами стафилококкового токсина (ЛД₃₀).

Установлено, что интенсивность белкового обмена в тимусе на 20—30% выше, чем в лимфатическом узле. Через 1—5 суток после введения стафилококкового токсина в обоих органах подавляется интенсивность белкового обмена (до 45—80% от исходного). Это падение обусловлено снижением количества лимфоцитов и уменьшением интенсивности белкового обмена в оставшихся лимфоидных клетках. Через 10 суток интенсивность белкового обмена в лимфоидной ткани тимуса и лимфатического узла практически не отличается от контрольной; восстановление же количества лимфоидных клеток неполное (70—80% от исходного).

Библ. — 12; табл. — 2.

Некоторые спорные вопросы строения, гистогенетических потенциалов и свойств стволовой кроветворной клетки (СКК), колониеобразующей единицы (КОЕ) и малого лимфоцита костного мозга. Хуссар Ю. П. и Луцников Е. П. — Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 498. Труды по медицине ХЛІ, с. 52—60.

В свете литературных данных и результатов собственных исследований авторами рассматриваются некоторые общие проблемы строения, гистогенетических связей и свойств стволовой кроветворной клетки (СКК), колониеобразующей единицы (КОЕ) и малого лимфоцита костного мозга. Все эти клетки имеют практически одну и ту же форму малой круглой клетки. КОЕ образуют часть СКК, это предшественники кроветворения в селезенке и других органах после трансплантации смертельно облученным реципиентам. Собственно лимфоидная популяция костного мозга поддерживается костномозговыми СКК и пришлыми из периферической крови клетками.

Одним из наиболее существенных свойств клеток костного мозга является их высокая чувствительность к воздействию внешних факторов, в частности к воздействию ионизирующей радиации. В то же время костномозговые клетки обладают и высокой регенераторной способностью и способны к репарации даже в сильных дозах радиации.

Библ. — 40; табл. — 1; рис. — 1.

УДК 611-018+616.003.93

Кариометрические изменения лимфоидной популяции центральных и периферических лимфоидных органов у морских свинок при общем рентгеновском облучении. Лушиков Е. П. и Хуссар Ю. П. — Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 498. Труды по медицине XLI, 1979, с. 62—67.

На 50 морских свинках-самцах методом прямой кариометрии исследовались изменения размеров ядер клеток лимфоидной популяции костного мозга, тимуса, селезенки и мезентериального лимфатического узла в норме и при общем однократном рентгеновском облучении в дозах 50 и 300 р.

Установлены четкие зональные различия размеров ядер лимфоцитов. Наиболее крупными являются лимфоциты костного мозга и светлого центра периферических лимфоидных органов. Через 4 суток после облучения в дозах 50 и 300 р размеры лимфоцитов увеличиваются (за исключением костного мозга) и остаются повышенными до конца исследования. (22 суток). Наиболее четкое увеличение диаметра и объема ядер отмечается в селезенке и мезентериальном лимфатическом узле. В светлом же центре лимфатического узла изменения весьма гетерогенные.

Библ. — 6; табл. — 4.

УДК 611-018+616.003.93

О классификации лимфоцитов. Лушиков Е. П., Хуссар Ю. П. — Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 498. Труды по медицине XLI, 1979, с. 69—71.

В работе рассматриваются существующие в настоящее время основные классификации лимфоидных клеток: генетические, морфологические, функциональные (иммунобиологические) и др. Подчеркивается необходимость комплексного подхода к этому вопросу и учета всех основных способов классификации лимфоцитов при изучении проблемы биологии лимфоидной ткани.

Библ. — 14.

УДК 612.432.017

Суточные изменения синтеза ДНК в аденогипофизе крыс при реакции стресс. Перт В. К. — Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 498. Труды по медицине XLI, 1979, с. 72—74.

В настоящей работе изучены суточные изменения синтеза ДНК (при помощи H^3 -тимидина) в аденогипофизе крыс в норме и при реакции стресс. Результаты опытов показывают, что интенсивность включения H^3 -тимидина в клетках аденогипофиза в условиях формалинового стресса резко подавляется. Суточный ритм синтеза ДНК при этом полностью сохраняется.

Библ. — 8; табл. — 1; илл. — 1.

УДК 612.824

О влиянии электростимуляции миндалевидного комплекса на вазомоторику головного мозга. И прус-Шоттер А. В., Роосаар П. О. — Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 498. Труды по медицине XLI, 1979, с. 76—82.

В работе изучается влияние электростимуляции миндалевидного комплекса на микроциркуляцию головного мозга. После специальной обработки материала 31 экспериментального животного определили диаметр кровеносных сосудов. Установлено, что электростимуляция миндалевидного комплекса несколько сужает кровеносные сосуды мозга.

Библ. — 4; табл. — 7.

УДК 612.752:617.3—089.844

Возможности экспериментального исследования микроциркуляции костной ткани. Хавико Т. И. — Уч. зап. Тартуского гос. ун-та, вып. 498. Труды по медицине XLI, 1979, с. 83—85.

В настоящей работе приведены возможности экспериментального исследования микроциркуляции костной ткани методами контактной микроангиографии и просветления срезов после заливки сосудов 40%-ным раствором сульфата бария и тушь-желатиновой смесью. Методом distractionного эпифизеолиза автор исследовал кровоснабжение бедренных костей у 33 кроликов в норме и после удлинения. Исследования показали, что интенсивность костной регенерации находится в прямой зависимости от кровоснабжения данного сегмента.

Библ. — 10.

Ученые записки Тартуского государственного университета. Выпуск 498. Вопросы морфогенеза и регенерации. Труды по медицине XL1. На русском языке. Резюме на английском языке. Тартуский государственный университет. ЭССР, г. Тарту, ул. Юликооли, 18. Ответственный редактор А. Лепп. Корректоры В. Логинова, Г. Лийв. Сдано в набор 26 02 1979. Подписано к печати 15 06 1979. Бумага печатная 60×90^{1/16}. Печ. листов 6,25 + 7 вклеек. Учетно-издат. листов 6,44. Тираж 500. МВ-02759. Зак. № 806. Типография им. Х. Хейдеманна. ЭССР, г. Тарту, ул. Юликооли, 17/19. III

Цена 1 руб.

5—1