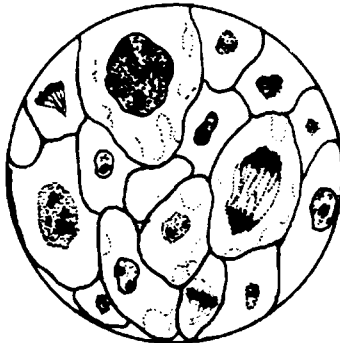




TARTU UNIVERSITY

TISSUE BIOLOGY

**Reports of the 5th republican
scientific meetings
of the tissue biology
June 5 1990**



TARTU 1992

TARTU UNIVERSITY

TISSUE BIOLOGY

**Reports of the 5th republican
scientific meetings
of the tissue biology
June 5 1990**

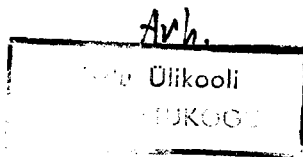
ТКАНЕВАЯ БИОЛОГИЯ

**Материалы V республиканского
научного совещания
5 июня 1990**

TARTU 1992

Toimetusekolleegium:

E. Vasar (esimees), L. Allikmets, Ü. Arend, K. Gross, M. Kalnin, A. Lenzner, J. Maaros, L. Mehilane, A. Paves, E. Sepp, I. Tammaru, A. Tikk, L. Tähepõld



KUSTUTATUD

12406

CONTENTS — СОДЕРЖАНИЕ

Ü. Hussar, T.Seene, M. Umanova. Changes of the mast cells number and the degree of its degranulation in different skeletal muscle fibres and lymphoid organs of rats after administration of glucocorticoids	7
E. Leibur. Effects of prostaglandin E ₂ on embryonic alveolar bone in tissue culture	9
K. Pärn, A. Piirsoo, M.-A. Reintam. Small cell lung cancer specific monoclonal antibodies	11
O. Salum. Ultrastructural study of hard palate mucosa surface under removable dentures: the preliminary reports by the data of scanning electron microscopy (SEM).....	14
S. Veroman. A hypothesis of vertebrate eye lens phylohistogenesis	16
S. Veroman. Morphological differentiation of <i>in vitro</i> -cultivated eye lens tissue	18
A. Адолян, М. Дюйна, Р. Массо. О влиянии тироксина на синтез РНК в кардиомиоцитах крысы	22
Ю.Э. Аренд, А.Ю. Аренд. Влияние простагландинов на фибробластическую реакцию в ране печени.....	25
Ю.Э. Аренд, А.Ю. Аренд, Т.Ю. Торпатс. Влияние простагландинов на состояние паренхимы печени	29
Ю.И. Афанасьев, Ю.Т. Волков. Возможный механизм реактивных изменений эпидермиса под действием 13-цис-ретиновой кислоты	31
А.Г. Бобков. Эпителиальные структуры лёгких в норме и патологии	33
Г.В. Буланова. Структурная характеристика стенок синус-венозных соединений селезёнки крыс (Свето-электронномикроскопическое исследование)	36
А.Э. Виткус, Ю.А. Лубите. Динамика морфологических изменений сердечной мышцы в онтогенезе	39

П.В. Дунаев, Г.С. Соловьев, В.А. Агарков. Органоспецифическая детерминация генетически родственных тканей и филогенетическая обусловленности их реактивных свойств	41
С. Ингерпуу, А. Пийрсоо, А. Сюттер, А. Пихлак, С. Киви. Изменения экспрессии антигенов, специфических к человеческим гранулоцитам при индуцированной дифференцировке клеток из линии миелоидных клеток.	45
Н.И. Калетина, Ю.И. Афанасьев. Реактивные изменения тканей в эксперименте при действии биокомплексов микроэлементов	47
М.В. Карзов, Н.А. Волошин. Характеристика лимфоидных органов после иммунизации плодов	50
Г.С. Катинас. Эволюция тканей в рамках эволюции организмов	51
А.В. Кораблев, Т.Н. Николаева. Особенности конструкции, адаптивные и патологические изменения гемомикроциркуляторного русла у новорожденных недоношенных детей	53
О.Н. Королева. Ультраструктурная характеристика вариантов строения аппарата Гольджи в однотоблестах при изменении баланса тиреоидных гормонов	55
Э. Лепп. Лимфолейкоз кур	58
У. Лехестик, Р. Райд, Ю. Кярнер. Особенности витального окрашивания нейтральным красным куриных зародышей <i>in ovo</i> во время гастрюляции и нейруляции	60
М.О. Льви-Калнин, П.О. Роосаар, М.Е. Рааг, Ю.Х. Пинтсон, М.И. Соотс. Влияние лазера на парах бромада меди на ткани неба в эксперименте (кратковременных опытах)	62
Ю.Г. Марков, Н.И. Берзинь. Цитохимическое исследование распределения цинка в печени и шитовидной железе при избытке этого элемента в организме	66
Р. Массо, Р. Уйбо. О влиянии тироксина на число и локализацию <i>m</i> RNP-содержащих гранул в ядрах клеток миокарда крысы	68

И.И. Мескла. Реактивные гистологические изменения в имплантатах ДМБА — содержащего воскового шарика в энуклеированных надпочечниках у крыс	72
В.П. Михайлов. Естественная классификация тканей	75
А.В. Молодюк. Реактивные и адаптивные изменения сперматогенного эпителия белых крыс при общем охлаждении организма	81
А.И. Никитин, О.А. Воробьёва. Внутряичниковые регуляторы дифференцировки соматических и половых клеток фолликулов	84
В.И. Ноздрин. Ретиноевая кислота как возможный естественный регулятор иммуногенеза	87
Л.А. Плявинь. Особенности клеточного состава лимфоидных скоплений в зависимости от локализации в толще стенки пищевода	90
Р. Райд, Ю. Кярнер. Аутолитические очаги в клетках РС12 при NGФиндуцированной дифференцировке и в эмбриональных клетках в период гастрюляции	92
Л. Ралене, К. Шальчюс, А. Валанчюте. Морфофункциональное преобразование широчайшей мышцы спины вследствие электро-нейростимуляционной тренировки	94
В.С. Ревазов, В.А. Кудряшова, И.К. Воропай. Микротопографические взаимоотношения лимфатических капилляров с железистым эпителием	97
О.П. Рябчиков, Л.Т. Теблоева, Г.Н. Суркова. Иммунологические показатели лимфоцитов крови детей в норме и при гемолитико-уремическом синдроме (ГУС)	99
П.А. Сидорова, Ж.Е. Федорова, А.К. Дондуа. Морфологические изменения клеток зародышей полихеты NE-REIS VIRENS в ответ на тепловой шок	101
Т.С. Смирнова. Влияние биологически активного пептида на клетки лимфоидного ряда, выявляемые в функционально различных зонах регионарного лимфатического узла	103
И.Б. Токин, Г.Ф. Филимонова. Особенности цитоскелета эпителиальных клеток беспозвоночных	105

З.С. Хлыстова, И.И. Калининна. Определение тимического гормонального фактора (тималина) в эпителиях различной локализации у плода человека	107
Ю.П. Хуссар, Э.П. Лепп, А.И. Лепп, Х.Х. Тапфер, А.Г. Лийгант, Х.А. Томуск, Е.П. Лушников, И.У. Кольтс. Адаптивность суточного ритма митозов корковых тимолимфоцитов крыс к воздействию динамических нагрузок и формалина	110
В.А. Четвертных. Проблемные вопросы строения и функции лимфодной ткани пищеварительного тракта	113
Заключение	117

CHANGES IN THE MAST CELL NUMBER AND THE DEGREE OF ITS DEGRANULATION IN DIFFERENT SKELETAL MUSCLE FIBRES AND LYMPHOID ORGANS OF RATS AFTER ADMINISTRATION OF GLUCOCORTICIDS

Ü. Hussar, T. Seene, M. Umnova
(Tartu)

Although large doses of glucocorticoids decrease body weight and whole-body synthesis, this is only response within the individual tissues of the body. In contrast to the loss of protein from the bone, lymphoid tissue, skeletal and smooth muscle, there is an increase in the cardiac, hepatic and urogenital nitrogen content. The catabolic action of glucocorticoids on the skeletal muscle was found to depend on the type of muscle fibres and on the functional activity of skeletal muscle. The direct role of glucocorticoids in the enhancement of muscle protein catabolism suggest an involvement of alkaline proteinase in it. Alkaline proteinase(s) is synthesised in mast cells and after degradation of these cells proteinase is integrated into muscle fibre. But we have no knowledge about the nature of mast cells. It is not clear whether these cells are local (muscular) or not.

The purpose of our study was the determination of the number of mast cells and their state of degranulation in different skeletal muscle types and lymphoid organs during dexamethasone administration.

Materials and methods

16- to 17-week old male rats of Wistar strain were maintained on a diet containing 12 % protein, 28 % carbohydrate and 9 % lipids. Food and water were given ad libitum. The rats were assigned to control and dexamethasone-treated. Dexamethasone sodium phosphate (Galenika, Yugoslavia) was diluted to 200 µg/ml with 0.15 M NaCl and administered intraperitoneally in doses of

100 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 6 wt during 10 days. The control animals received appropriate amounts of 0.15 M NaCl. For studies the fast-twitch white and the fast-twitch red type muscle fibres were separated from the m.quadriceps femoris and cytochromes aa₃, and myoglobin was used as a marker. The soleus muscle was used for studies on the slow-twitch red muscle. For electron microscopy, muscle samples were cut into small pieces which were fixed by immersion in 2.5 % glutaraldehyde combination in phosphate buffer (0.1 M). The samples were postfixed with osmium tetroxide. This section was stained with lead citrate and uranyl acetate, and examined with a JEM 100 c electron microscope.

Results and discussion

In dexamethasone-treated rats the elevation of autolytic activity at pH 9.1 was more pronounced in the fast-twitch white muscle fibres. The rise in the alkaline proteinase activity in white muscle fibres dexamethasone-treated rats was also approximately two times higher than in the fast-twitch red fibres. Degradation of myofibrillar protein in the carcass muscle increased by dexamethasone treatment more than twofold (2.5 times). The ultrastructural study showed the disarray of thick myofilaments in fast-twitch white fibres in dexamethasone-treated rats. Obviously the destructive process of myofilaments begins from the periphery of myofibrils, spreads to the central part of sarcomere near the H-zone and is distributed over all the A-band. We get the impression that the thin filament and Z-line are much more resistant to any catabolic action of dexamethasone than the thick filaments in fast-twitch white muscles. The myofibrils of fast-twitch white muscles are thinner in dexamethasone-treated rats. This is caused by the splitting of myofibrils. In fast-twitch red fibres the destruction of thick myofilaments was remarkably less pronounced. Myofibrils were structurally normal in the dexamethasone-treated soleus muscle. There are only slight morphological changes in fast-twitch red fibres and there are no structural changes in slow-twitch muscle fibres during hormone treatment. This could be interpreted as due to lesser elevation of proteolytic activity in these muscles, but in white muscles, where the oxidative capacity is low, the alkaline proteinase activity as well as the rise in the number of lysosomes was more pronounced.

A heterogeneous histomorphological picture of the destructive dystrophic and restorative changes of the lymphoid tissue of thymus, lien and lymph nodes has been found (according to the various

other loadings — training, formaline intoxication, etc.). There is an accidental involution of the thymus gland, disappearing of the cortex-medulla border of the lobuli thymi, destruction and death of cortex T-lymphocytes, plasmacytose, an increase in tissue basophils of the lymph node medulla has also been established. The mitotic activity of the lymphocytes as well as the functional activity of macrophages in all lymphoid organs is increased.

A distinct mast cells (tissue basophils) reaction has been found. After dexamethasone administration the mast cells count in lymph node medulla had rapidly decreased (from 1.41 ± 0.22 to 0.52 ± 0.04), but in muscle tissue it had increased. Probably the lymph nodes are sources of the muscle mast cells. After 48 hours of dexamethasone administration the mast cells count in lymph nodes is returned to control level. At the same time an acute degranulation of mast cells in white muscle tissue, surrounding the capillaries has been established.

After dexamethasone administration emigration of lymph node mast cells to the white muscle tissue is highly significant.

EFFECT OF PROSTAGLANDIN E₂ ON EMBRYONIC ALVEOLAR BONE IN TISSUE CULTURE

E. Leibur
(Tartu)

The study of the mechanism of bone resorption and new osteoid formation during periodontal disease has not only a theoretical but also a practical importance. An important role in the pathogenesis of periodontal disease is played by cellular mediator prostaglandin E₂. Prostaglandins are humoral factors of microcirculation. They act on the intimate mechanisms of cell metabolism. According to Goodson et al. (1974), and Tawfik (1981), periodontal disease is associated with an increase in PgE₂ levels. PgE₂ levels of gingival tissue were twice as high as those seen in normal tissues (160 mg/g normal, 300 mg/g in periodontal disease).

In periodontal disease the source of PgE₂ is mainly polymorphic leucocytes, macrophages, mast cells and endothelial cells (Lönig et al. 1980, Tolone et al. 1980). This means that the inflamed periodontal tissues may produce significant amounts of PgE₂ and the degree of

inflammation might be determined by the ratios of PgE_2 .

We studied the behavior of alveolar bone in tissue culture and the effect of PgE_2 on alveolar bone of pig embryos aged 1.5 months. The aseptically removed alveolar bone fragments (2×2 mm) were placed on the surface of millipore filter resting on a stainless steel so that the medium filled the culture vessel to the surface of the steel. In all experiments the medium composed of 80 % medium 199, 15 % horse serum, 100 u per ml penicillin and streptomycin were added.

Cultivation of the control cultures and the cultures with PgE_2 were terminated after 14 days. PgE_2 was added to the cultures in concentration of $0.5 \mu\text{g/ml}$ of medium. Bouin's fluid was used as a fixative. Paraffin sections at $8-10 \mu$ were stained with hematoxylin and eosin. The rates of resorption and formation of the bone were determined by ocular-micrometer. We found morphologic differences in alveolar bone cultures after applying PgE_2 . In the control cultures and in the cultures with PgE_2 alveolar bone resorption was first noted after about 2 to 3 days. In both cases the resorption continued rapidly so that by 8 days 60 % of the bone in control cultures was destroyed.

On the 9th-10th day, new trabeculae had formed in the middle part of the bone culture. The 12-14 day culture revealed the presence of new osteoid, which in some regions took on the basophilic staining characteristics associated with calcification.

It has been found that the dark trabeculae in the cultures were calcifying osteoid. The addition of PgE_2 in concentration of $0.5 \mu\text{g/ml}$ of medium stimulated bone resorption.

In these cultures alveolar bone resorption was noted after about 2 to 3 days. The resorption continued rapidly so that by 8 days 75 % of alveolar bone in the cultures was destroyed. These cultures of alveolar bone showed the disappearance of osteoblasts, complete resorption of the matrix and proliferation of osteoclasts. The 12-14 day culture revealed osteoclastic resorption of bone. Compared with the control cultures, bone formation had not occurred.

Histological investigation of specimens showed that by the 14th day almost complete resorption of alveolar bone and remnants of original bone were only seen in the culture. In some regions fibroblastic proliferation was present.

From the findings of the morphological investigation it can be concluded that PgE_2 had stimulated bone resorption in tissue culture. The bone-resorptive stimulating activity of PgE_2 is due

to its inhibitory activity in the proliferation and differentiation of osteoblasts. PgE₂ inhibits new bone formation in tissue culture; it demonstrates a dual effect by stimulating bone resorption and by inhibiting new bone formation.

On the basis of these results and the finding that the inflamed gingival tissue may produce significant amounts of PgE₂ it seems reasonable to propose that indomethacin and aspirin which both inhibit prostaglandin synthesis be considered in the treatment of periodontal disease.

REFERENCES

1. Goodson J.M., Dewhirst F.F., Brunetti A. Prostaglandin E₂ levels and human periodontal disease // *Prostaglandins*. — 1974. — Vol. 6. — P. 81-85.
2. Lönig T.H., Albers H.K., Idsboa B.P., Burkhardt A., Caselitz J. Prostaglandins E₂ and local immune responses in chronic periodontal disease // *J. Periodont. Res.* — 1980. — Vol. 15. — P. 525-535.
3. Tawfik M.A., E. Ahar H., Lin S. Prostaglandins in gingiva of patients with periodontal disease // *J. Periodont.* — 1981. — Vol. 52, N. 1. — P. 16-19.
4. Tolone G., Bonasera L., Tolone C. Biosynthesis and release of prostaglandins by mast cell // *Brit. J. Exp. Path.* — 1978. — Vol. 59. — P. 105-109.

SMALL CELL LUNG CANCER SPECIFIC MONOCLONAL ANTIBODIES

K. Pärn, A. Piirsoo, M.-A. Reintam

(Tartu)

Introduction

There has been a tendency among clinicians to divide lung cancer into 2 major clinico-pathological categories: small cell lung cancer (SCLC) and nonSCLC. While there are differences in biological characteristics, metastatic capacity and survival, SCLC stands out as a distinct entity — neuroendocrine cancer of the lung. The aim of our study was to get monoclonal antibodies (MKA) specifically reacting with SCLC.

Materials and methods

Splenocytes from a Balb/c mice immunized with SCLC cell line H-69 were fused with the murine myeloma line SP 2/0 according to the hybridoma technology described elsewhere [1]. The two hybridoma cell lines secreting MKA 4H69.7A5 and 4H69.9A7 were selected by their reactivity with SCLC cell lines and lack of reaction to adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung/SqCLC/ cell lines. Immunodot analysis has shown that the MKAs are of IgM class.

The expression of antigenic determinants recognized by MKAs were examined by means of both indirect immunofluorescence (FIA) and immunoperoxidase (ELISA) techniques performed by a standard procedure described elsewhere. Staining of the cells was graded for intensity [1] on a scale of 0/absent/ to 5/strong/ and the percentage of cells reacting with MKAs/P/ was estimated in increments of 10 %.

Results and discussion

The present study described two IgM type hybridomas derived against SCLC cell line H-69. As has been indicated in Table 1, these MKAs are not reactive with adenocarcinoma and SqCLC cell lines. Immunoreaction with cell lines H-69 and H-128 was located on cell surface and was of a granular nature. The investigations of cell lines U1906 and U1285 showed similar localization of binding, but only a few cells of the total cell number were stained.

The obtained MKAs were routinely screened against a panel of cell lines to ascertain their binding patterns. Table 1 shows the binding profile of MKAs as assessed by FIA an ELISA. No significant staining was performed on a variety of cell lines with the exception of the promyelocytic cell line HL-60/for both MKAs/ and melanoma cell lines /for 4H69.7A5/.

MKA 4H69.9A7 binding was examined on several normal and malignant tissue frozen acetone fixed sections. Table 2 presents the results of tissue section immunostaining. Of the 7 cases SCLC studied in 3 cases the MKA reactivity was intense and detectable throughout the tumor tissue whereas in 4 cases two distinct cell populations were revealed, which were intimately mixed and morphologically identical but one stained strongly with MKA and the other was completely negative.

3 of 5 cases of SqCLC were firmly positively stained with MKA. The reaction was not all-embracing and was bound only in some

Table 1

Binding of MKAs to cell lines

TARGET CELLS	I		P	
	4H69.9A7	4H69.7A5	4H69.9A7	4H69.7A5
SCLC				
H-69	5	5	80	80
H-128	5	5	80	80
U-1906	5	5	10	10
Adenocarcinoma				
A549	0	0		
SqCLC				
CALU-1	0	0		
Extrapulmonary tumor cell lines				
N-HS-S	0	0		
K562	0	0		
PC 12	0	0		
HEP 2	0	0		
U 937	0	0		
HL 60	4	4	60	60
BOVIE MELANOMA	0	3		40

Table 2

Binding of MKA 4H69.9A7 on tissues

TISSUE SAMPLE	N ^o of specimens	POSITIVE CASES
SCLC	7	7
SqCLC	5	3
Adenocarcinoma	4	0
Neuroblastoma	2	0
Fetal lung	1	0
Fetal thymus	1	0
Bronchial glands	6	1
Bronchial epithelium	6	3

squamous nests. All the studied adenocarcinomas and the lung tissues were negative. In some cases MKA identified hyperplasia of endocrine cells in the bronchial epithelium.

The fact that MKA reacted only with certain cells in SCLC cell culture and at the same time some SCLC tumor nodules failed to bind MKA exemplifies the intratumoral antigenic heterogeneity and thereby demonstrates that single MKA does not fulfil the criteria for being a reliable diagnostic tool. A panel of MKAs comprising the potential antigenic spectrum could therefore be useful.

Another set of problems arises in connection with SCLC reactive MKA binding on SqCLC. Although MKA selection criteria was nonbinding on SqCLC model cell line, MKA bound strongly to SqCLC squamous nests. Such cross-reactivities are noticed by some authors [2], but the reason for this finding is hitherto unclear.

Numerous investigations [3, 4] have observed that a considerable number of lung tumor cases show admixtures of areas with different histological differentiation. Thus it is of potential interest to find out the nature of this MKA detected antigen which marks the similar differentiation states of SCLC and SqCLC.

REFERENCES

1. Milstein C. Monoclonal antibodies // *Sci. Amer.* — 1980. — Vol. 243. — P. 563-564.
2. Tabatowski K., Volmer R.T., Tello R.T. et al. The use of the panel of monoclonal antibodies in ultrastructurally characterized SCLC // *Acta Cytol.* — 1988. — Vol. 32. — P. 667-674.
3. Baylin S.B., Mendelson G. Time dependent changes in human tumors // *Seminars in Oncology* — 1982. — Vol. 9. — P. 504-512.
4. Gardar A., Carney D., Caccion J. SCLC: cellular origin and relationship to other pulmonary tumors // *Small cell lung cancer.* — New York: Grune & Stratton, 1981. — P. 145-176.

ULTRASTRUCTURAL STUDY OF HARD PALATE MUCOSA SURFACE UNDER REMOVABLE DENTURES: A PRELIMINARY REPORT ON THE BASIS OF DATA OBTAINED BY SCANNING ELECTRON MICROSCOPY (SEM)

O. Salum, M. Rahi

(Tartu)

The oral mucosa epithelium covering the areas exposed to compression and abrasion during mastication is normally cornified. It is

a region, where epithelium shows a well-defined stratum corneum (orthokeratinization), but parakeratinized areas occasionally occur also normally.

The epithelium, lamina propria and the form of epithelium — connective tissue junction reflect the functional demands of different regions of the oral cavity.

The oral mucosa is not designed to provide a foundation for removable dentures. Therefore it is not possible predict how these unnaturally loaded tissues react to masticatory load. There are different studies describing the normal structure of oral epithelium [1, 2] as well as tissue changes under different type of dentures [2, 3, 4].

The most probable cause of tissue changes (lesions) are ill-fitting or poorly contoured dentures, poor oral hygiene, accentuation of the palatal relief, malocclusion of the dentures, and wearing of dentures every other day.

The present study investigated the surface ultrastructure of hard palate mucosa under complete and partial dentures with free end saddles.

Biopsy specimens of human hard palate mucosa were taken from 16 volunteers of both sexes within the range of 30–65 years. All of the patients had worn removable dentures for more than 6 months. Hard palate epithelium was used for this investigation.

The tissue specimens were immediately placed in 4 % formaldehyde buffered to pH 7.4 with 0.1 molar phosphate and fixed at 4°C for 24 hours. Dehydration was performed in a graded series of ethanol, followed by critical point drying. The specimens were examined by TESLA 301 BS scanning electron microscope.

The results include the following findings. The normal pitted type epithelium is altered by epithelium with very short microplicas or by microvillous type epithelium surface pattern. The denuded areas or abrasion occur in 3 cases, indicating the beginning of denture stomatitis that is not mentioned clinically. These denuded areas were also smeared with microorganisms (mainly by cocci). The cell borders have lost their well-defined bordering with others, the underlying cell structures are not noticeable either. The bridges between two neighboring cells as seen in younger patients, have disappeared. By a manually made quantitative analysis it is shown that cell area is slightly but insignificantly greater than normal (mean $1030.4 \mu\text{m}^2 \pm \text{S.D.}101.8 \mu\text{m}^2$), whereas microplication density per $100 \mu\text{m}^2$ cell area differs significantly (mean $44.1 \pm \text{S.D.}8.7 \%$). This

supports the opinion mentioned previously by many authors [5] that the reaction of supporting tissue is directly dependent on the type of dentures.

A further study will be directed to developing a computer image analysis system for a more exact quantitative analysis of mucosa under loaded conditions.

REFERENCES

1. Kullaa-Mikkonen A. Scanning electron microscopy in oral research: a review // *Scanning Microscopy*. — 1987. — Vol. 1, N. 3. — P. 1145-1155.
2. Wilding R.J.C. The surface ultrastructure of normal, denture-bearing and denture stomatitis mucosa // *Dent. Ass. South. Africa*. — 1973. — Vol. 28, N. 10. — P. 576-581.
3. Akbay T., Akbay C. Ultrastructural investigation of hard palate mucosa under complete dentures // *J. Prosth. Dent.* — 1988. — Vol. 59, N. 1. — P. 52-59.
4. Sharma A.K., Mirza F.D. Palatal mucosa under dentures: a qualitative histologic and histochemical analysis // *J. Prosth. Dent.* — 1986. — Vol. 56, N. 5. — P. 574-583.
5. Müller N., Hoffmann M. Langzeitreaktion von Kammschleimhaut und Knochen auf die Prothesenbelastung // *Deutsche Zahnärztl. Z.* — 1985. — Vol. 40. — S. 290-297.

A HYPOTHESIS OF THE VERTEBRATE EYE LENS PHYLOHISTOGENESIS INSTITUTE OF GENERAL AND MOLECULAR PATHOLOGY OF TARTU UNIVERSITY

S. Veroman
(Tartu)

The embryonic ectoderm is an initial tissue from which nervous tissue, eye lens and epidermal epithelium develop. The ectoderm becomes multilayered after the lens vesicle has separated. In mammals the upper cells of the multilayered ectoderm become bladder cells. Later bladder cells of the ectoderm are substituted by a population of keratinizing epidermal epithelial cells. Therefore, the bladder cell stage of the ectoderm is a transitory one [1].

The pseudomultilayered epithelium of the developing lens vesicle differentiates into a single-layered epithelium and fibre cells of the

lens. However, bladder cells [5] have been reported in pathological (cataractous) lenses of fishes, amphibians, birds and mammals. Eye lenses of reptiles have not been studied in this respect. In mammals, the normal lenses of the common mole consist entirely of bladder cells [2]. Bladder cells have also been described in rat and mouse cataractous lenses. Bladder cells frequently occur in organ-cultured and human cataractous lenses [3, 4]. It is supposed that the extensive and frequent occurrence of lens bladder cells suggests that they may be related to the eye lens phylohistogenesis. At present there are no reports on this matter.

The bladder cells of the embryonic ectoderm and those of the pathologic lens are morphologically similar. Proceeding from this similarity, and the Müller-Haeckel biogenetic law, it can be supposed that the vertebrate lens has evolved from the ectoderm of the vertebrate ancestors (from the bladder cells of the ectoderm, if they were present there). And the other way round, the bladder cells of the lens and of the ectoderm in contemporary vertebrates may be regarded as cases of histogenetic recapitulation of the ancestor lens or ectoderm.

REFERENCES

1. Knorre A.G. Embryonal Histogenesis. — Leningrad: Publishing House Medicina. 1971. — 432 p. [in Russian].
2. Rabl C. Über den Bau und die Entwicklung der Linse // Z. Wiss. Zool. — 1900. — Bd. 67. — S. 1-138.
3. Veroman S.A. On the histology of the human cataractous lenses // Acta et comment. Univ. Tartuensis. — 1989. — N 862. — P. 111-119. [in Russian with English abstract].
4. Veroman S., Viikmaa E. Frequency of occurrence of abnormal cell types in organ-cultured fetal crystalline lenses and its dependence upon the culture medium used // Ophth. Res. — 1989. — Vol. 21, N. 2. — P. 101-105.
5. Wedl C. Atlas der Pathologischen Histologie des Auges. Leipzig, 1860. — S.p.

MORPHOLOGICAL DIFFERENTIATION OF *IN VITRO*-CULTIVATED EYE LENS TISSUE

S. Veroman

(Tartu)

Tissue culture *in vitro* is a continuing tissue life outside organism which is supposed to resemble the functioning of damaged tissue [1], or in case of immature tissues, it has been assumed to resemble embryonic histogenesis *in vivo* [5]. The assessment of differentiation process in tissues, cultivated in cell, tissue or organ culture *in vitro* is complicated because of tissue and cell heterogeneity and because of cell identification problems *in vivo* and *in vitro*. Without cell identification it is impossible to estimate tissue differentiation expression in *in vitro* cultures.

Differentiation of any tissue cultivated *in vitro* over a certain period of time is to be studied against the background of the differentiation processes in the same tissue type *in vivo* over the same period of time, e.i. an experiment- and control-group comparison becomes mandatory.

There are but few tissues in the organism that can be cultivated in their pure form. The ones best known are the tissue of the eye lens and that of bird or rabbit retina.

The eye lens is an ectodermal tissue devoid of stroma, blood supply and innervation. Its cuboidal epithelium is made up of G⁰-phase cells, that proliferate in a injured eye. Continuous differentiation into epithelial and fibre cells is taking place in the germinative zone of the normal eye lens. The bulk of the lens tissue is built up of organoid-free, non-proliferating mature fibre cells. Unlike the normal lens, the pathologic (cataractous) one has been described to contain complexes of epithelioid, fibroblast-like, invasive and bladder cells and other abnormal cell complexes [7, 11]. In the cataractous lenses the development of new lens fibres ceases [14] and the lens epithelium proliferates under the posterior capsule as strongly flattened very long cells (pseudopeithelium). Being separated from other tissues by the lens capsule, the eye lens is a good tissue choice for studies of pure tissue in different cultures *in vitro*.

Lenses to be cultivated are mechanically removed from eyes, and that means a slight trauma to the lens tissue. Moreover, the normal lens environment — aqueous humor and vireous body —

is substituted by some empirically made-up nutrient medium. As during the cultivation period (lasting from a few hours to some months) lens tissue differentiation *in vivo* does not undergo much change, then *in vivo* - *in vitro* differentiation process comparison may be made proceeding from the precultivation lens tissue morphology.

Lens tissue cultivation (transplantation) *in vivo* with a carcinogen has resulted in ectopic lens tumors [4].

This paper will be an attempt to describe and analyse the differentiation process in lens cell, tissue and organ cultures proceeding from data presented in literature an from the author's experimental data. The *in vitro* culture methods differ from each other by the damage effected upon the tissue to be cultivated and by the cell identification possibilities *in vitro*.

Morphological differentiation criteria (cell appearance and proliferation) will be relied on in comparing differentiation processes in lens tissue *in vivo* and *in vitro*. Embryonic ectoderm cultures in which ectopioc lens tissue has been noted [10], will be touched upon in brief.

Lens cell culture and cell lines. After removal from the eye lens cells are fermentatively dissociated. The effect of fermentation on lens cells is unknown. Lots of harvested cells die, the remainder give rise to growth zones of epithelial cells. After the 5th-7th day in culture, proliferation of epithelial cells gradually ceases, then by about 25-30 days of cultivation, some cells have become detached from substrate and the remaining ones have turned into strongly flattened very long cells containing organoids [9]. These cells are considered to be differentiated *in vitro* cells that resemble lens fibres *in vivo* [2, 6].

In cell cultures lens cells are unidentified. This makes it difficult to estimate their differentiation level *in vitro* in comparison with their precultivation level of differentiation *in vivo*. Anyhow, the cell proliferation in culture looks very much like the cell proliferation in an injured lens *in vivo*. However, the strongly flattened long cells that appear in the final stage of cultivation do not resemble normal lens fibres *in vivo*; they are similar to pseudoepithelial cells in cataractous lenses.

The fact that ectopic lens tumors may start from *in vitro* cultivated cells [2, 6] suggests that the fermentation of lens cells, cell selection and abnormal cell environment both *in vitro* and *in vivo* will turn initially normal lens cells into tumor cells even when no carcinogen is present.

Lens explant culture. Lens tissue is dissected before explantation; there is no fermentative processing. In culture many explants fail to grow and degenerate. But in most cases growth of epithelial cells has been observed. Epithelial cells of growth zones multiply and differentiate similar to the growth and differentiation in lens cell culture. In addition, aggregations of fibroblast-like and bladder cells, horny-pearl-like formations and rosettes [7, 9], invasive cells and round compact spatial clumps of epithelial cells have also been noted in explant cultures. Labelling of S-phase cells with ^3H -thymidine before cultivation has shown that neither epithelial nor germinative-zone cells become lens fibers [8]. Immature pre-existing lens fibres turn into bladder cells (of Wedl), however, and may start proliferating in culture [9].

There are no data concerning retransplantation of the lens tissue culture cells into animals.

So it can be said that lens epithelium in tissue culture proliferates the same way it does in injured lenses *in vivo*. It differentiates *in vitro* into pseudoepithelial cells. Clumps of abnormal cells in culture look similar to the corresponding cells in cataractous lenses *in vivo*. It is of interest that rosettes present in culture [7], have not been observed in lenses *in vivo* and thread-like cells present in cataractous lenses [3] have not been found in lens cultures.

Organ-cultured lenses. Slight bruise at removal from the eye is the only precultivation trauma that lenses have to sustain differently from lens cell and tissue cultures. Histological data on adult lens organ culture are scarce. It is known that in fetal lens organ culture, lens epithelial cells cease to proliferate by the 6th-7th day of cultivation, but as early as on the 3th-4th day of cultivation abnormal proliferating epithelioid, fibroblast-like, invasive and bladder cell aggregations can be observed. These cell types originate from the normal lens epithelium. They are morphologically distinctly different from normal lens epithelial [11]. The differentiation of the germinative zone cells into normal epithelial and fibre cells stops supposedly at the time the lens is placed into an artificial medium. The cessation of normal morphological differentiation becomes evident either on the 4th-7th or about the 14th cultivation day, depending on the culture medium used [11, 14, 15]. The epithelium of the equatorial region spreads as pseudoepithelium; and differentiating young lens fibres become bladder cells.

There are no data concerning retransplantation of organ-cultured lenses into animals.

Discussion. Comparing histological results obtained using different methods of cultivation of lens tissue *in vitro*, we could see embryonic histogenesis resembling the normal one *in vivo* only in explants of embryonic ectoderm, but even there the abnormal development (lenses of aberrant form, lentoids) seems to be more common than the normal one [10].

Regardless of the different nutrient media used, proliferation of epithelial cells in fetal and adult lens cell and tissue cultures always resembles that of the injured lenses *in vivo*, and pathologic differentiation into pseudoepithelial cells and formation of abnormal cell aggregations takes place. Normal differentiation into epithelial and fibre cells stops [8, 9]. In organ-cultured lenses normal differentiation also stops: cells of the germinative zone proliferate as pseudoepithelium without even producing any new, abnormal fibres (bladder cells). Abnormal cell aggregations that occur in organ-cultured lenses, closely resemble those in cataractous lenses *in vivo*. The only process resembling the normal differentiation *in vivo* is the cessation of proliferation of the fetal lens epithelium in organ culture, all other differentiation processes in *in vitro* cultured lens tissue are pathological, resembling differentiation processes either in injured or pathological (cataractous) lenses *in vivo*, or, they make cells tumorous lens umours [2, 6, 12].

To sum it up, the morphological differentiation in different lens cultures *in vitro* resembles predominantly differentiation processes in injured or in cataractous lenses *in vivo*. It is probable that the same also holds true concerning the biochemical events in cultured lenses, and even concerning the differentiation processes of other tissues cultured *in vitro*.

REFERENCES

1. Chlopin N.G. General-biological and experimental fundamentals of histology. — Leningrad: Publishing House of Academy of Sciences of USSR. — 1946. — 491 p. [in Russian].
2. Courtois Y., Counis M.T., Laurent M., Simonneau L., Treton J. *In vitro* cultivation of bovine, chick and human epithelial lens cells in ageing studies // Interdisciplinary Topics Gerontol. — 1987. — Vol. 12. — P. 2-12.
3. Kupriyanova E.V., Veroman S.A., Formazi'uk V.E., Sergienko V.I., Vladimirov Yu.A. Potassium ion homeostasis changes in mouse lens with hereditary cataract (cataract Fraeser line) // Biull. Exper. Biol. Med. — 1988. — Vol. 105, N 7. — P. 42-45. [in Russian with English abstract].

4. Mann I. Induction of an experimental tumor of the lens // *Brit. J. Cancer* I. — 1947. — P. 63–67.
5. Pyldvere K. Growth and differentiation of fetal ependymoglia tissues and meninges in tissue culture: Doctoral thesis. — Tartu, 1971. — 485 p. [in Russian].
6. Tassin J., Simonneau L., Courtois Y. Biology of the epithelial lens cells // *Colloque de l'INSERM*. — 1976. — Vol. 60. — P. 145–162.
7. Veroman S.A. On peculiarities of growth of the lens in the tissue culture // *Arch. Anat.* — 1975. — Vol. LXVIII, N 2. — P. 92–97 [in Russian with English abstract].
8. Veroman S.A. On identification and differentiation in the lens in the tissue culture // *Arch. Anat.* — 1975. — Vol. LXIX, N. 8. — P. 60–66 [in Russian with English abstract].
9. Veroman S.A. Growth and differentiation of cortical cells in the lens of cattle foetuses in tissue culture // *Arch. Anat.* — 1986. — Vol. XCL, N. 10. — P. 28–37 [in Russian with English abstract].
10. Veroman S.A. The histopathological significance of lentoids // *Cell Biology: theses of conference*. — Tartu, 1986. — P. 34–36 [in Russian].
11. Veroman S.A. On the morphology of different cell types in organ-cultured fetal crystalline lenses // *Biull. Exper. Biol. Med.* — 1988. — Vol. 105, N. 2. — P. 237–240 [in Russian with English abstract].
12. Veroman S.A. Tumorous nature of cell growths in cataractous lenses // *Nauka na Straže Zdorov'ya*. — Tartu, 1988. — Part I. — P. 54–56 [in Russian].
13. Veroman S. Proliferation of abnormal cells in fetal organ-cultured and human cataractous lenses // *Ophth. Res.* — 1989. — Vol. 21, N. 6. — P. 443–445.
14. Veroman S. Histological differentiation in the fetal organ-cultured and human cataractous eye lenses // *Ophth. Res.* [in the press].
15. Veroman s., Viikmaa M. Frequency of occurrence of abnormal cell types in organ-cultured fetal crystalline lenses and its dependence upon the culture medium used // *Ophth. Res.* — 1989. — Vol. 21, N. 2. — P. 101–105.

О ВЛИЯНИИ ТИРОКСИНА НА СИНТЕЗ РНК В КАРДИОМИОЦИТАХ КРЫСЫ

А. Адоян, М. Дюйна, Р. Массо

(Тарту)

Известно, что тироксин активизирует синтез РНК во многих типах тканей, в том числе и в миокарде. Молекулы тироксина связываются в ядрах клеток со специфическими белковы-

ми рецепторами, расположенными в транскрипционно-активных участках хроматина [3]. Связывание молекулы гормона с рецепторным белком вызывает активацию РНК-полимераз, процессов посттранскрипционной обработки, транспорта молекул РНК в цитоплазму и, наконец, синтеза белка [4]. Неизвестно, одинаково ли увеличиваются при этом скорости синтеза всех классов РНК. В данной работе мы исследовали влияние однократного введения тироксина на распределение меченного предшественника РНК в ядрах кардиомиоцитов крысы на фоне воздействия актиномицин-Д, ингибирующего синтез информационной РНК.

Материал и методика

Крысы линии Вистар получили тироксин в однократной дозе 100 мг/100 г веса тела. Через 2, 4, 6, 12 или 24 часа после введения гормона крысам вводили $5\text{-}^3\text{H}$ -уридин (1 мКи/100 г веса тела). Инкубацию с меченым предшественником РНК проводили 20, 40, или 80 минут, после чего животное умерщвляли. В параллельных группах животным за два часа до этого был введен актиномицин-Д в дозе 0,2 мг/100 г веса тела. Ткань из миокарда фиксировали 2,5 % глютаровым альдегидом в 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4) в течение 6 часов при 0°C. После тщательной промывки в буфере ткань дополнительно фиксировалась в 1 % OsO_4 в этом же буфере (1 ч, 20°C). После очередной тщательной промывки в буфере ткань была дегидрирована в спиртах и залита в эпон 812. Полутонкие срезы (1 мкм) были окрашены на предметных стёклах толуидиновым синим, покрыты фотоэмульсией (тип М) и экспонированы в течение 6 нед. Для проявления автордиографов использовался проявитель Д-19. Анализ (подсчёт зёрен серебра на 100 ядер) проводился при помощи 100× иммерсионного объектива (микроскоп Лабортюкс-Лейтц). Полученные результаты были проанализированы вариационно-статистически на персональном компьютере.

Результаты и обсуждение

Результаты опытов приведены в таблице 1.

Результаты кратковременного мечения РНК (инкубация с $5\text{-}^3\text{H}$ -уридином 20 мин или 40 мин) указывают на то, что однократное введение тироксина не влияет на синтез быстро-меченные виды РНК (hn-RNA-гетерогенная ядерная РНК и snRNA-

Таблица 1

Среднее число зёрен серебра ($\bar{x} \pm \delta$) в ядре кардиомиоцита в зависимости от длительности влияния тироксина

Группа	Инкубация 20 мин	Инкубация 40 мин	Инкубация 80 мин	Инкубация 80 мин на фоне актиномицин-Д
1. Контроль	4,9 ± 1,3	4,4 ± 1,6	3,0 ± 1,0	4,4 ± 1,5
2. 2 ч после введения T ₄	5,0 ± 1,5	4,0 ± 1,8	4,2 ± 1,1	4,4 ± 1,1
3. 4 ч после введения T ₄	4,4 ± 1,5	4,0 ± 1,6	4,6 ± 1,0*	—
4. 6 ч после введения T ₄	4,4 ± 1,6	3,7 ± 1,5	3,6 ± 1,3	3,3 ± 1,1*
5. 12 ч после введения T ₄	—	3,4 ± 1,4*	4,4 ± 1,0*	2,7 ± 1,0*
6. 24 ч после введения T ₄	2,9 ± 1,0*	—	3,1 ± 1,1	4,1 ± 1,2

Звёздочкой отмечены достоверные различия ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой.

низкомолекулярная ядерная РНК) в течение первых 6 часов. Только спустя 12 ч. и 24 ч. после введения гормона отмечалось достоверное уменьшение синтеза данной фракции РНК. Известно, что быстро-меченая фракция РНК не выходит из ядер [1].

Результаты длительного мечения (80 мин инкубирования с меченым уридином) дали во многом другие результаты. Через 4 ч после введения тироксина включение меченного уридина в РНК происходило более активно, чем у контрольных животных. Активный синтез РНК отмечался еще спустя 12 часов после введения гормона. Увеличение синтеза РНК в миокарде через 4–6 часов после введения тироксина отмечалось и другими исследователями при помощи биохимических методов [5].

В параллельном опыте, где инкубирование с меченым уридином было проведено на фоне влияния актиномицин-Д, обнаружено достоверное уменьшение включения метки в РНК. Используемая нами концентрация актиномицин-Д вызывает ингибирование синтеза информационной РНК [2]. Таким образом, наши опыты показали, что значительная доля синтезируемой под влиянием тироксина РНК в кардиомиоцитах — это информационная РНК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fakan S., Bernhard W. Localization of rapidly and slowly labeled nuclear RNA as visualized by high resolution autoradiography // *Exp. Cell. Res.* — 1971. — Vol. 67. — P. 129-141.
2. Jelinek W., Adesnik M., Salditt M., Sheiness D., Wall R., Molloy G., Phillipson L., Darnell J.E. Actinomycin D suppress the synthesis of rapidly labeled hnRNA // *J. Mol. Biol.* — 1973. — Vol. 75. — P. 515-531.
3. Nikodem V.M., Rall J.E. Effect of thyroid hormone administration on the susceptibility of rat liver chromatin to digestion with micrococcal nuclease // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* — 1982. — Vol. 106. — P. 1148-1154.
4. Oppenheimer J.H. Thyroid hormone action at the nuclear level // *Ann. Int. Med.* — 1985. — Vol. 102. — P. 374-384.
5. Raymondjean M., Kneip B., Kruh J. Early molecular events in rat heart after administration of triiodothyronine // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1983. — Vol. 741. — P. 30-37.

ВЛИЯНИЕ ПРОСТАГЛАНДИНОВ НА ФИБРОБЛАСТИЧЕСКУЮ РЕАКЦИЮ В РАНЕ ПЕЧЕНИ

Ю.Э. Аренд, А.Ю. Аренд

(Тарту)

Простагландины (ПГ) являются относительно недавно открытыми соединениями. Первые данные о ПГ появились в 30-е годы нашего столетия, однако более интенсивное их исследование началось в 60-е годы [1, 2 и др.].

На кафедре гистологии и эмбриологии ТУ в течение ряда лет исследуется влияние введения экзогенных ПГ и ингибирования синтеза эндогенных ПГ на репаративную регенерацию соединительной ткани. По этому вопросу литературные данные, в частности гистологические, весьма малочисленные. В данной статье делается попытка обобщить результаты работ, проведенных на кафедре в этом направлении.

Опыты настоящей работы проведены более чем на 600 молодых половозрелых белых крысах линии Вистар обоего пола

и на 39 морских свинок. Всем животным наносили гальванокаутером рану в печень стандартной величины (рана печени от прижигания — модель для изучения процесса заживления ран, разработанная эстонскими морфологами). Продолжительность опытов составляла 12 часов, 1, 3, 6, 12 и в ряде серий 30 дней. Пользовались первыми отечественными ПГ, синтезированными под руководством акад. Ю.Э. Лилле (Институт химии АН в Таллине). Применяли ПГЕ₁, Е₂, F_{2a}, I₂, синтетические аналоги Е₁ и F_{2a} (в дальнейшем тПГЕ₁ и тПГF_{2a}) в дозах 100 и 500 мкг/кг внутривенно. Ингибиторы синтеза ПГ индометацин (в дозах 3, 7 и 15 мг/кг), ибупрофен и аспирин (30 и 60 мг/кг) вводили подкожно один или несколько раз за весь период опытов. Животных умерщвляли под эфирным наркозом вырезыванием сердца. Срезы из ран обрабатывали общегистологическими и некоторыми гистохимическими методами, применяли морфометрические и радиоавтографические исследования ³H-тимидином, в ряде серий — и электронно-микроскопические исследования. Все цифровые данные обрабатывались статистически t-тестом.

В 12- и 24-часовых опытах под влиянием изучаемых ПГ у белых крыс в инфилтрате в ране печени статистически реальных изменений в клеточном составе не наблюдается. Практически не отличается от контрольной группы и лейкоцитарная реакция после введения индометацина, ибупрофена и аспирина.

К 3 и 6 дню вокруг некротического очага в ране печени образуется пояс из грануляционной ткани (зона организации), толщину ее измеряли в микрометрах. Подсчитывали число фибробластов, находящихся в митозе, и вычисляли митотический коэффициент (МК). В радиоавтографических сериях вычисляли индекс мечения ядер (ИМ) фибробластов.

У белых крыс как в 3-, так и в 6-суточных опытах ПГЕ₁ и тПГЕ₁ в дозе 500 мкг/кг в день значительно угнетают пролиферацию соединительной ткани — уменьшается толщина зоны организации, снижается МК и ИМ фибробластов. Эти же препараты в дозе 100 мкг/кг существенного влияния на репаративную регенерацию соединительной ткани не имеют, как и ПГF_{2a} и тПГF_{2a} в дозе 500 мкг/кг. В таблице 1 приведены некоторые цифровые данные 6-суточных опытов. Результаты аналогичны как у белых крыс-самцов, так и у самок.

В 3- и 6-суточных опытах аспирин, ибупрофен и индометацин заметно тормозят пролиферацию соединительной ткани

Таблица 1

Препарат	Суточная доза, мг/кг	Число опытов	Толщина зоны организации, мкм	МК фибробластов %
Белые крысы-самцы				
Контроль	—	5	112,1 ± 3,1	—
ПГЕ ₂	0,1	6	115,6 ± 3,9	—
ПГФ _{2α}	0,5	6	106,7 ± 9,8	—
Контроль	—	5	117,9 ± 5,0	—
ПГЕ ₂	0,5	5	98,5 ± 3,9*	—
Контроль	—	5	114,8 ± 3,7	—
ПГГ ₂	0,1	5	121,1 ± 9,8	—
Контроль	—	10	104,3 ± 4,1	—
Аспирин	30	8	78,5 ± 9,3*	—
Индометацин	5	9	69,5 ± 5,9**	—

Белые крысы-самки

Контроль	—	15	115,1 ± 2,7	2,75 ± 0,24
ПГЕ ₁	0,1	5	131,4 ± 11,0	—
ПГЕ ₁	0,5	5	55,7 ± 5,9***	1,76 ± 0,21***
тПГЕ ₁	0,5	4	74,2 ± 2,2***	1,70 ± 0,37*
ПГГ ₂	0,1	5	118,2 ± 8,5	—
Индометацин	3	5	81,2 ± 6,9***	1,36 ± 0,31**
Индометацин	7	4	66,7 ± 6,4***	1,65 ± 0,28*
Ибупрофен	30	4	82,6 ± 5,3***	2,50 ± 0,24
Ибупрофен	60	5	74,6 ± 3,9***	1,84 ± 0,20*
Контроль	—	5	107,3 ± 6,6	2,28 ± 0,23
ПГФ _{2α}	0,5	6	107,3 ± 3,5	2,07 ± 0,29
тПГФ _{2α}	0,5	6	89,6 ± 7,9	2,00 ± 0,27

Морские свинки-самки

Контроль	—	8	112,9 ± 2,8	3,63 ± 0,40
ПГЕ ₁	0,5	4	64,6 ± 2,2***	1,70 ± 0,27**
тПГЕ ₁	0,5	6	71,7 ± 5,2***	2,60 ± 0,26*
ПГФ _{2α}	0,5	5	93,1 ± 5,0***	2,76 ± 0,19
тПГФ _{2α}	0,5	5	59,6 ± 1,8***	2,16 ± 0,19**
Индометацин	3	5	91,0 ± 7,9*	2,72 ± 0,35
Индометацин	7	5	78,2 ± 6,5***	2,52 ± 0,27*

Примечание: *p < 0,05;
 **p < 0,01;
 ***p < 0,001.

(табл. 1). В 6-суточных опытах на морских свинок выясняется, что пролиферация соединительной ткани у белых крыс и морских свинок протекает сходно, но имеются и известные видовые различия: морские свинки более чувствительны к воздействию ПГ. ПГF_{2α} и тПГF_{2α} у белых крыс существенно не влияют на разрастание соединительной ткани, а у морских свинок подавляют изучаемый процесс (табл. 1).

В 12- и 30-суточных опытах индометацин сохраняет угнетающее действие на пролиферацию соединительной ткани, но ибупрофен, ПГЕ₁ и тПГЕ₁ при этих сроках опытов такого эффекта уже не имеют.

Время полураспада экзогенно введенных ПГ — только несколько минут, поэтому электронно-микроскопические исследования проведены через 5 минут и 4 часа после последней инъекции ПГ. Спустя 5 минут после последней инъекции ПГЕ₁ или тПГЕ₁ наблюдаются выраженные изменения фибробластов (гипертрофируется комплекс Гольджи, цистерны гранулярной эндоплазматической сети сливаются в крупные лакуны и т.д.), но через 4 часа после введения этих ПГ в фибробластах отмечается уже увеличение аутолитических процессов, что свидетельствует о необратимости возникших изменений.

В настоящее время известно около 20 разных природных ПГ; в данной работе удалось исследовать влияние ПГЕ₁, ПГF_{2α} и их синтетических аналогов, ПГЕ₂ и ПГI₂, на процесс регенерации соединительной ткани. Выясняется, что более эффективными являются ПГ группы E, в частности E₁. ПГF_{2α} и I₂ имеют на данный процесс менее выраженное действие. Синтетические аналоги ПГ сохраняют характер действия соответствующих природных ПГ.

Можно утверждать, что ПГ играют важную роль как местные регуляторы в процессе репаративной регенерации соединительной ткани.

ЛИТЕРАТУРА

1. Простагландины / Под ред. И.С. Ажгихина. — М.: Медицина, 1978.
2. Prostaglandins / Ed. J.B. Lee. — New York: Elsevier North Holland, 1982.

ВЛИЯНИЕ ПРОСТАГЛАНДИНОВ НА СОСТОЯНИЕ ПАРЕНХИМЫ ПЕЧЕНИ

Ю.Э. Аренд, А.Ю. Аренд, Т.Ю. Торпач

(Гарту)

На кафедре гистологии в течение ряда лет занимаются изучением влияния простагландинов (ПГ) на состояние печеночной паренхимы.

Целью настоящей работы является исследование ингибирования синтеза эндогенных ПГ, а также введение экзогенных ПГЕ₁, Е₂ F_{2α} и I₂ и синтетических аналогов ПГЕ₁ и ПГF_{2α} на состояние гепатоцитов.

Опыты проведены на 236 молодых половозрелых крысах, часть серий — на крысах-самках, часть — на крысах-самцах. Всем животным гальванокаутером наносили рану в печень стандартной величины для исследования репаративной регенерации соединительной ткани. У тех же животных исследовали состояние печеночной паренхимы далее от раны — в другой доли печени.

Продолжительность опытов — 3, 6, 12 и в ряде серий 30 суток. Индометацин и аспирин (ингибиторы синтеза ПГ) вводили подкожно в виде стабилизированной взвеси; индометацин в дозах 7, 15 и 30 мг/кг 1–3 раза за весь период опытов, аспирин — 30 мг/кг ежедневно или 60 мг/кг 3 раза за весь период опытов. ПГЕ₁ и F_{2α} вводили внутривенно 100 и 500 мкг/кг двумя инъекциями в день, синтетические аналоги ПГЕ₁ и F_{2α} в дозе 500 мкг/кг также двумя инъекциями. Доза ПГI₂ и Е₂ была 100 мкг/кг. Все ПГ синтезированы в Институте химии АН в Таллинне (акад. Ю.Э. Лилле и его группа).

Животных умерщвляли под эфирным наркозом вырезыванием сердца, во избежание влияния суточных ритмов в одно и то же время суток — между 17 и 19 часами. В 6-дневной группе опытов провели еще радиоавтографические исследования ³H-тимидином. Кусочки из печени обрабатывали общегистологическими и некоторыми гистохимическими методами. В 6-дневных опытах подсчитали количество митозов и меченных ³H-тимидином ядер гепатоцитов. Митотический коэффициент (МК) и индекс мечения ядер (ИМ) даны в промилле. Количество гликогена определяли по субъективной шкале (0-+++). Все цифровые данные обрабатывали t-тестом, показатели количества гликогена — χ^2 -тестом.

В 6-дневных опытах в контроле МК гепатоцитов равняется 0–0,53‰, ИМ — 4,8‰. Как ингибирование синтеза эндогенных ПГ, так и все применяемые экзогенные ПГ не обуславливали существенные сдвиги в физиологической регенерации гепатоцитов. Аспирин только в некоторых сериях опытов обуславливает статистически реальное снижение количества гликогена в гепатоцитах, но индометацин в дозах 7 и 15 мг/кг в 3-суточных и 6-суточных опытах в дозе 15 мг/кг два раза за весь период опытов статистически достоверно уменьшил количество гликогена в гепатоцитах.

Часто под влиянием аспирина и индометацина наблюдалась мозаичная структура отложения гликогена, а также картина периферического отложения гликогена в дольке печени — это принято трактовать как поражение паренхимы печени. Дистрофические изменения (жировая дистрофия) под влиянием ингибиторов отмечаются только у единичных животных.

Применение экзогенных ПГЕ₁ и F_{2a} не обуславливает существенных сдвигов МК и ИМ в гепатоцитах, единичные наблюдаемые сдвиги носят явно случайный характер. ПГЕ₂ и F_{2a} и его синтетический аналог обуславливают умеренное снижение гликогена в гепатоцитах. Статистически реальное снижение отмечается только в 6-дневной группе опытов с применением ПГЕ₂ и F_{2a} ($p < 0,05$). ПГЕ₁ и его синтетический аналог обуславливают также снижение отложения гликогена, статистически реальное только в некоторых группах (в ряде 3- и 6-дневных опытах на уровне $p < 0,05$ до 0,01). Мозаичное отложение гликогена отмечается лишь у некоторых крыс в группе применения ПГЕ₁ и его аналога. ПГ₁ обуславливает также умеренное, но статистически недостоверное снижение отложения гликогена.

Данные настоящей работы, как и предыдущие эксперименты [1, 2, 3], показывают, что наличие эндогенных простагландинов необходимо для нормального хода сахарного обмена в печени. Введение экзогенного ПГ также влияет на этот процесс, но в более умеренной степени, очевидно из-за быстрого разрушения в организме (полураспад их совершается в течение нескольких минут).

ЛИТЕРАТУРА

1. Аренд Ю.Э., Торнгатс Т.Ю., Кярнер Ю.К. Влияние простагландинов E_2 и $F_{2\alpha}$ на состояние печеночной паренхимы // Уч. зап. Тарт. ун-та. — 1984. — Вып. 677. — С. 8–11.
2. Аренд Ю.Э., Торнгатс Т.Ю. О влиянии ингибирования синтеза эндогенных простагландинов на состояние паренхимы печени // Тканевая биология: Мат. IV респ. совещ. — Тарту, 1985. — С. 129–131.
3. Аренд Ю.Э., Аренд А.Ю. Влияние простагландинов E_2 , $F_{2\alpha}$ и их синтетических аналогов на содержание гликогена в печеночной паренхиме // Уч. зап. Тарт. ун-та. — 1987. — Вып. 788. — С. 20–22.

ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ РЕАКТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ЭПИДЕРМИСА ПОД ДЕЙСТВИЕМ 13-ЦИС-РЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Ю.И. Афанасьев, Ю.Т. Волков
(Москва)

Природные соединения витамина А и его аналоги-ретиноиды способны оказывать регулирующее влияние на процессы морфогенеза тканей эпителиального и мезенхимного происхождения. Накопленные к сегодняшнему времени данные позволяют предположить, что между иммуномодулирующим и эпителиотропным действием ретиноидов существует функциональная взаимосвязь.

В настоящем исследовании была поставлена цель выявить возможный механизм реактивных изменений эпидермиса мышей при введении 13-цис-ретиновой кислоты (13-цРК).

Материалы и методы

Животные. Эксперимент выполнен на мышках-самцах СВВА весом 20–22 г.

Ретиноиды. Суспензию 13-цРК вводили перорально через день в 0,2 мл соевого масла, в течение 2 недель. Дозы вещества указаны в табл. 1.

Клеточные суспензии. Выделение лимфоцитов селезенки производили на холоду в асептических условиях в среде 199. Доза перенесенных клеток во всех опытах составила 40 млн в 0,5 мл среды 199.

Изотопы. Для оценки пролиферативной активности эпидермиса использовали тимидин, меченный тритием. Изотоп вводили внутривенно по 1 мКи/г веса животного в 0,2 мл физиологического раствора троекратно с 8-часовым интервалом. Последнее введение изотопа производили за 1 час до умерщвления животных. Парафиновые срезы кожи спины мышей толщиной 4–5 мкм покрывали фотозмульсией типа "М", экспонировали 3 нед. при +4°C, проявляли и окрашивали гемалауном.

В препаратах производили измерение толщины эпидермиса, подсчет митотического индекса (МИ) и индекса меченых ядер (ИМЯ) на 100 кератиноцитов базального и супрабазального слоев. Определение различных типов лимфоцитов в суспензии селезеночных клеток выполняли в цитотоксическом тесте с анти-Т сывороткой и с использованием гистохимической реакции на кислую альфа-нафтилацетатэстеразу (рН 6,9).

Результаты исследования

Основным проявлением реактивных изменений эпидермиса мышей под действием 13-цРК является стимуляция его пролиферативной активности, которая выражается в подъеме МИ и ИМЯ кератиноцитов и увеличении толщины эпидермиса (табл. 1). Выявленные изменения носят дозозависимый характер. При этом наблюдается процесс структурной перестройки эпидермальных пролиферативных единиц и утрата ими столбчатой организации (доза 13-цРК — 100 мг/кг).

Таблица 1

Доза 13-цРК	ИМЯ, %	Толщина эпидермиса, мкм
(Контроль)	10,7 ± 0,3	15,5 ± 0,7
1 мг/кг	12,6 ± 2,5	15,7 ± 0,3
10 мг/кг	14,8 ± 1,8	17,2 ± 0,9*
100 мг/кг	34,2 ± 5,1*	24,5 ± 0,8*

* — $P < 0,05$ к группе "Интактных".

Однонаправленные изменения пролиферативной активности эпидермиса были выявлены при сингенном переносе лимфоци-

тов от животных, получавших 13-цРК, интактным реципиентам (табл. 2).

Таблица 2

Доза 13-цРК полученная донором	ИМЯ, % в эпидермисе реципиентов лимфоцитов в различные сроки после трансплантации клеток		
	1 сут.	2 сут.	3 сут.
(Контроль)	4,4 ± 0,3	8,8 ± 1,5	11,2 ± 0,7
1 мг/кг	5,1 ± 0,7	14,5 ± 3,9	16,2 ± 2,8
10 мг/кг	9,6 ± 2,1*	11,9 ± 0,2	15,3 ± 2,1
100 мг/кг	15,3 ± 2,1*	19,3 ± 0,7*	12,2 ± 1,1

* — $P < 0,05$ к контролю (введение лимфоцитов от интактных мышей).

Анализ субпопуляций лимфоцитов показал, что под действием 23-цРК в селезенке мышей увеличивается процентное содержание Т-клеток (интактные — 58,5 %, введение 100 мг/кг 13-цРК — 77,1 %; $P < 0,05$) с преобладанием хелперных форм (интактные — 9,5 %, введение 100 мг/кг 13-цРК — 15,6 %; $P < 0,05$).

Таким образом, одним из возможных механизмов реализации морфогенетического эффекта ретиноидов на эпидермис может служить опосредованная Т-лимфоцитами стимуляция пролиферативной активности кератиноцитов.

ЭПИТЕЛИАЛЬНЫЕ СТРУКТУРЫ ЛЁГКИХ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

А.Г. Бобков
(Санкт-Петербург)

Сообщения о реактивных изменениях эпителия лёгких делались ранее [1, 2], однако новые наблюдения и их трактовка заставляют возвращаться к этой проблеме. Закономерности структурных превращений тканей рассматриваются как процесс реализации клетками наследственно обусловленных потенций [4], которые наиболее полно выявляются в разнообразных

условиях патологии. Эпителий, выстилающий дыхательные пути и альвеолы лёгких, единый по происхождению в эмбриогенезе, объединяет в своём составе клеточные элементы с различной морфофункциональной дифференцировки, характеризующие организмотипическую форму существования эпителиального пласта в целом. Соотношение между различными клеточными формами находится в состоянии динамического равновесия, которое может смещаться вследствие различных причин.

В эпителии бронхов под воздействием раздражающих газов в эксперименте и у человека наблюдается гиперплазия и гиперсекреция бокаловидных клеток при одновременном уменьшении количества и повреждении реснитчатых клеток. Эти явления в известных пределах совместимы с сохранением организмотипической дифференцировки, но их нарастание приводит к десквамации ослизнённого пласта, от которого сохраняются лишь клетки базального ряда. Приобретая свободную поверхность, последние формируют однорядный кубический атрофичный эпителий, лишённый организмотипических признаков. Подобный эпителий обнаруживается также в участках воспалительного склероза слизистой оболочки при хроническом бронхите, бронхоэктазах и пр.

Наряду с атрофией в повреждённом эпителии местами происходит регенераторная или воспалительная пролиферация эпителиальных клеток с образованием многорядных и ложно-многослойных структур неопределённой дифференцировки или метастатического эпителия типа переходного или многослойного плоского. При этом в перестройке эпителиального пласта могут участвовать не только камбиальные — базальные и промежуточные клетки, но также дифференцированные формы, которые теряют реснички или секреторные гранулы, уплотняются и входят в состав переходного или многослойного пласта.

Образование названных структур можно рассматривать как переход эпителия из организмотипической и гистиотипическую форму, что с биологической точки зрения представляет собой адаптацию эпителия к неблагоприятным условиям. Утрачивая организмотипическую дифференцировку, эпителий сохраняется как ткань с более примитивной покровной функцией. На вопрос — возможен ли обратный переход из гистиотипической формы в организмотипическую — в принципе следует положительный ответ, который, в частности, доказывается восстановлением обычного строения бронхиального эпителия в эпителизированных кистах

после абсцесса или инфаркта лёгкого. Но для этого необходимы определённые условия, в числе их — затихание воспаления и отсутствие грубых рубцов под эпителием. Как известно, эпителий находится в коррелятивной связи с подлежащей тканью, что наиболее полно показано в работах В.Г. Гаршина [3 и др.]. Но ещё в начале века немецкие авторы (Wacker, Schminke и др.) ставили вопрос о прямом "формативном" влиянии на эпителий определённых химических веществ.

Эпителий альвеол, переход в гистiotипическую форму при воспалительных и склеротических процессах в лёгких, образует однослойные и изомерные ложномногослойные пласты. Так, при острой абсцедирующей пневмонии у кролика выраженная пролиферативная реакция интерстиция межальвеолярных перегородок сопровождается пролиферацией альвеолярного эпителия, состоящего из набухших кубических клеток, в которых часто видны митозы. В части клеток под электронным микроскопом выявляются пластинчатые тельца, что подтверждает участие в пролиферации альвеолицов 2-го типа. Эпителий пролиферирует *in situ*, а также наползает на поверхность плотного, содержащего фибрин экссудата в просвете альвеол.

Аналогичные картины можно наблюдать у человека при воспалительных процессах в лёгких. При подостро протекающем идиопатическом фиброзирующем альвеолите Хаммена-Рича наблюдается пролиферация альвеолярного эпителия в виде однослойных и ложномногослойных пластов, в которых встречаются митозы. При склерозе межальвеолярных перегородок утративший газообменную функцию дедифференцированный кубический эпителий сохраняется неопределённо долго.

Изредка при альвеолите Хаммена-Рича в перибронхиально расположенных альвеолах встречается выстилка мерцательным эпителием или островки многослойного плоского эпителия. Поскольку возможность превращения альвеолярного эпителия в бронхиальный и многослойный плоский противоречит основной массе наблюдений, такие находки следует объяснить наползанием в альвеолы бронхиального эпителия через каналы Ламберта. Аналогичное объяснение может быть дано обнаружению в альвеолярных ходах и альвеолах большого количества клеток Клара, которые, вероятно, появляются здесь в результате смещения эпителия бронхол.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бобков А.Г., Рябуха Н.А., Картавова В.А. Проллиферативные реакции эпителия бронхов и альвеол при неспецифических воспалительных заболеваниях лёгких // Актуальные вопросы суд. медицина и пат. анатомии: Тез. докл. 5 республи. научно-практ. конф. суд. медиков и пат. анатомов ЭССР. — Таллинн, 1981. — С. 112-113.
2. Бобков А.Г. Воспалительная и регенераторная пролиферация эпителия альвеол лёгких, её диагностическое значение // Сравнительные аспекты изучения регенерации и клеточной пролиферации: Тез. докл. 7 всесоюз. конф. по вопросам регенерации и клеточного деления. — М., 1985. — Ч. 1. — С. 20-22.
3. Гаршин В.Г. Воспалительные разрастания эпителия, их биологическое значение и отношение к проблеме рака. — М.-Л., 1939.
4. Михайлов В.П., Вахтин Ю.Б. Специфичность тканей и генетика соматических клеток // Арх. анат. — 1987. — № 19. — С. 22-38.

СТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТЕНКИ СИНУС-ВЕНОЗНЫХ СОЕДИНЕНИЙ СЕЛЕЗЕНКИ КРЫС (Свето-электронномикроскопическое исследование)

Г.В. Буланова
(Москва)

Структурные отличия в строении сосудистых стенок на последовательных этапах венозного оттока в селезёнке представляют несомненно теоретический интерес для понимания функциональной специализации и характера взаимодействия венозных сосудов с тканевым микроокружением различных зон красной пульпы, рассматриваемой в качестве морфологического субстрата для иммунных реакций (Nieuwenhuis 1976; van Kriken 1988). Однако в литературе информация о гистоструктуре стенок венозного звена селезенки, за исключением синусов, крайне мала [3]. В связи с этим настоящее исследование выполнено с целью изучения особенностей топографии и структурной характеристики стенки синус-венозных соединений селезенки крыс с

учетом различных условий фиксации органа методом погружения (иммерсия) и перфузии, моделирующих замедленный и оптимально ускоренный отток в венозном русле.

Материалы и методы

Для свето-электронномикроскопических целей проводились фиксация иммерсией тканевых блоков (размером 2-3 мм³) селезенки 5 крыс и фиксация органа предварительно анестезированных и гепаринизированных 5 животных путем введения канюли в левый желудочек сердца смеси 2,5 % растворов глютаральдегида и параформальдегида. Последующая обработка материала включала стандартную методику дофиксации в 1 % OsO₄, дегидратацию в спиртах, заключение в смесь эпонараллита. Полутонкие срезы окрашивались толуидиновым и метиленовым синим, проведена ШИК-реакция с периодной кислотой и Шифф-реактивом. В работе использовались импрегнированные серебром по Футу гистологические срезы селезенки крысы, заключенной в парафин.

Результаты и их обсуждение

В результате морфологического анализа (ШИК-реакция, толуидиновый синий) серийных полутонких срезов селезенки крыс было установлено, что начальный отдел венозного русла неоднороден и представлен выстланной эндотелием обильно анастомозирующей сетью синусов разного размера, расположенных между тяжами красной пульпы. Вариабельность морфологии, размера и содержимого просвета венозных синусов отражает постоянный динамизм их структуры и зависит, согласно Saito (1988), от степени контракции капсулярно-трабекулярных элементов селезенки. На срезах перфузируемого органа наибольшая плотность и радиальная ориентация синусов характерна для субкапсулярной зоны, а концентрическая локализация их расширенных просветов обычно наблюдалась со стороны красной пульпы в наружных регионах перимаргинальной зоны. Ретикулярные волокна формируют кольцевую сеть вокруг продольно ориентированных вдоль хода синуса эндотелиальных клеток.

На ультратонких срезах селезенки крыс стенка начальных синусов представлена выбухающими в просвет округлыми эндотелиоцитами, прерывистой мембраной и прилежащими к ней адвентициальными ретикулярными клетками. Цитологическую

характеристику синусных эндотелиоцитов определяет наличие хорошо развитого комплекса Гольджи, микропиндоцитозных пузырьков и аблюминально расположенных пучков цитоплазматических микрофиламентов.

Сеть сообщающихся начальных синусов (диаметром 10–25 мкм) формирует более широкий — коллекторный или собирательный, достигающий иногда 50–80 мкм. Его стенки поддерживаются фиксирующими трабекулами, часто расположенными под острым углом. Ультраструктура стенки собирательных синусов состоит из вытянутых вдоль длинной оси клетки эндотелиоцитов с веретеновидными ядрами, непрерывной базальной мембраны и цитоплазматических отростков ретикулярных клеток, не формирующих еще сплошного периваскулярного слоя вокруг нее.

Эндотелиальная выстилка стенок переходных отделов из синусов в венозные отводящие сосуды является непрерывной. Она представлена соединением округлых синусных и удлинено-веретеновидных венулярных эндотелиоцитов без выявленных нами каких-либо промежуточных клеточных форм. В зоне синус-венозных анастомозов расположенные цепочкой ретикулярные клетки прилежат к истонченному эндотелию и базальной мембране. Волокнистые структуры ветвящихся трабекул, в состав которых входят коллагеновые и ШИК-положительные ретикулярные волокна, обычно продольно ориентированы к длиннику венулярных эндотелиальных клеток. Синус-венозные соединения микрососудистого русла дают начало трабекулярным венам малого калибра (50–60 мкм), которые принимают вдоль своего хода другие начальные синусы, сливающиеся с веной под прямым углом. В характеристике эндотелиоцитов венозных сосудов следует выделять большее содержание везикул, лизосом и электронно-плотных внутриклеточных включений. Базальная мембрана истончена и непрерывна.

Таким образом, в нашем исследовании начальных путей венозного оттока крови в синусовой, по классификации Snook [4], селезенки крыс идентифицированы следующие звенья: начальные, коллекторные синусы и трабекулярные вены. Обнаруженные различия морфологических признаков в организации стенок венозных звеньев характеризуются полиморфизмом выстилающего их эндотелия, дифференцированной активностью внутриклеточных органелл, строением базальной мембраны, вариабельностью взаимориентации эндотелиального и волокнистых компонентов, что свидетельствует о функциональных принципах отличия гис-

тоструктуры синусной и венозной стенок. Это согласуется с существующими представлениями о сосудистом эндотелии как гетерогенной популяции клеток, обеспечивающей метаболическую и регуляторную активность сосудистого русла на последовательных этапах венозного оттока [1].

ЛИТЕРАТУРА

1. Bundgaard M. Functional implication of structural differences between consecutive segments of vascular endothelium // *Microcircul. Endoth.* — 1988. — Vol. 2. — P. 113–142.
2. Saito H., Yokoi Y., Watanabe S., Tajima J., Kuroda H., Namihisa T. Reticular meshwork of the spleen in rats studied by electron microscopy // *Amer. J. Anat.* — Vol. 1988, N. 3. — P. 235–252.
3. Schmidt E., MacDonald G., Froom A. Microcirculation of rat spleen /sisal/ studied by means of corrosion casts, with particular references to the intermediate pathways // *J. Morphol.* — 1985. — Vol. 186, N. 1. — P. 1–16.
4. Snook T. A comparative study of the vascular arrangements in mammalian spleens // *Amer. J. Anat.* — 1950. — Vol. 57, N. 1. — P. 31–61.
5. Krieken J. van, Velde J. de. Normal histology of the human spleen // *Amer. J. Surg. Path.* — 1988. — Vol. 12, N. 10. — P. 777–785.

ДИНАМИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ В ОНТОГЕНЕЗЕ

А.Э. Виткус, Ю.А. Лубите

(Каунас)

Сердце человека во время внутриутробного и постнатального развития при меняющейся его функциональной активности претерпевает ряд существенных изменений, касающихся форм и мышечной ткани. В литературе описано развитие сердца в определенные сроки пренатального периода у человека [1, 2, 4, 6], но не дана последовательность этих процессов во всех периодах развития сердца, что не позволяет хорошо ориентироваться в основных вопросах развития систем человека, причинах и времени возникновения врожденных аномалий, хотя некоторые попытки были сделаны [3, 5].

Цель настоящей работы — попытка по данным литературы и собственных исследований выяснить этапы морфологической перестройки мышцы сердца. Нами выделено пять этапов изменений — от закладки сердца до образования дефинитивного органа.

I этап — закладка сердца — охватывает период от первого появления прекардиальных клеток между спланхномезодермой и энтодермой (15–16 сутки эмбрионального развития) до слияния парных эндокардиальных трубок и эпимекардиальной пластинки (21 сутки).

II этап — трабекулярное сердце. На этом этапе в сердце появляется трабекулярная и бестрабекулярная зоны, где дифференциация и рост клеток в трабекулярной зоне более высок, чем в бестрабекулярной. Стенка желудочков тоньше, чем предсердий за счёт среднего слоя, в котором появляются многочисленные трабекулы. С появлением первичных миофибрилл начинается сокращение сердца, и тем самым появляется кровоток через сердце. С появлением трабекулярных мышц в формирующихся желудочках сердца заканчивается второй этап гистогенеза сердца (28 сутки).

III этап — формирование контрактильного аппарата и проводящей системы сердца (до 12 недели развития): в мышечных волокнах нарастает количество миофибрилл, которые складываются в пучки правильной ориентации. Между мышечными элементами выявляются кровеносные сосуды. Кардиомиоциты имеют основные органеллы общего характера. В продольных срезах между кардиомиоцитами уже видны зигзагообразные межклеточные контакты. Сердце приобретает дефинитивную форму, образуются перегородки. Таким образом, на этом этапе из простого трубчатого сердца оно превращается в сложную 4-камерную 2-канальную систему, и этим заканчивается третий этап гистогенеза сердца.

IV этап — перестройка соотношения интерстициум-кардиомиоцит антенатального онтогенеза (от 12 недели до рождения). Идёт развитие как формы, так и объёма сердца. При этом происходит перестройка соединительной ткани, сосудистой и лимфатической систем сердца, формируется иннервация и т.д.

V этап — “дефинитивное сердце” — охватывает следующие периоды: дифференциации, стабилизации и формирующегося кардиосклероза миокарда. Последний связан с компенсаторно-адаптационным перераспределением взаимоотношения интерстициум-кардиомиоциты (как в сторону увеличения

первого, так и уменьшения второго).

Таким образом, предлагаемые нами этапы морфологической перестройки мышцы сердца имеют не только теоретическое, но и практическое значение для оценки врожденной патологии и путей их предупреждения, что позволяет также ориентироваться в функциональных и адаптационно-компенсаторных возможностях развивающегося сердца в возрастном аспекте.

ЛИТЕРАТУРА

1. Брусилловский А.И., Георгиевская Л.С., Савчук Б.В. и др. Материалы к оценке темпов гистогенеза производных трех зародышевых листков в раннем эмбриогенезе человека // Тр. Крымского мед. ин-та. 1982. — Т. 91. — С. 53-62; 1983. — Т. 100. — С. 49-64; 1984. — Т. 102. — С. 54-83.
2. Cooper M.H., O'Rahilly R. The human heart of seven postovulatory weeks // Acta Anat. — 1971. — Vol. 79. — P. 280-299.
3. DeHaan R.L. Embryology of the heart // The heart arteries and veins / J.W. Hurst, R.B. Logue. Tokyo, 1970. — P. 7-20.
4. Grant R.P. The embryology of ventricular flow pathways in man // Circul. — 1962. — Vol. 25, N. 5. — P. 756-779.
5. Sissman N.J. Developmental landmarks in cardiac morphogenesis: comparative chronology // Amer. J. Cardiol. — 1970. — Vol. 25. — P. 141-148.
6. Vernal D.G. The human embryonic heart in the seventh weeks // Amer. J. Anat. — 1962. — Vol. 111. — P. 17-24.

ОРГАНСПЕЦИФИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ РОДСТВЕННЫХ ТКАНЕЙ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОБУСЛОВЛЕННОСТЬ ИХ РЕАКТИВНЫХ СВОЙСТВ

П.В. Дунаев, Г.С. Соловьев, В.А. Агарков

(Тюмень)

Одной из актуальных проблем современной биологии и медицины является установление закономерностей становления органоспецифической детерминированности генетически родственных тканей в онтогенезе и влияние регуляторных механизмов организма на осуществление этого процесса.

Наиболее информативным экспериментальным приемом, могущим быть использованным при разработке этой проблемы, является метод культивирования тканей и органов в организме по

Ф.М. Лазаренко [3, 4]. Метод культивирования тканей и органов в организме по Ф.М. Лазаренко достаточно широко используется в экспериментальной гистологии для выявления генетической природы и реактивных свойств тканей различных органов [5, 1, 2].

В настоящем исследовании сделана попытка использовать метод культивирования тканей и органов в организме для изучения этапов становления органоспецифической детерминированности генетически родственных тканей в онтогенезе. Также мы попытались изучить закономерности зависимости реактивных свойств тканей как от генетической их природы, так и от особенностей органоспецифической детерминации.

Нами изучались этапы становления органоспецифической детерминированности эпителиев хрусталика и конъюнктивы (производных эктодермы), эпителиев щитовидной и околотитовидной желез, эпителиев воздухоносных путей и респираторных отделов легкого (как производных прехордальной закладки), эпителиев почек и семенников (производных мезодермы), хрящевой и костной тканей (как производных мезенхимы), начиная с момента закладки того или иного органа и кончая старческими их изменениями. Опыты проводились на белых беспородных крысах-самцах различных возрастных групп и кроликах "шиншилла". Донорами были зародыши, плоды, начиная с 10-ти суток внутриутробного развития до рождения, и животные различных возрастных групп (15 суток, 1, 3, 6, 12 месяцев; 1, 2, 3 года) после рождения. Реципиентами были гомологичные животные в возрасте 3 месяцев после рождения.

Имплантаты для исследования получены на стадиях 3, 6, 8, 12, 15, 30, 60, 90, 180 суток опыта. Гистологические препараты окрашивались как по обзорным методикам (гематоксилин Майера и эозин, азан по Гейденгайну, по Ван-Гизону), так и с использованием гистохимических методов по выявлению соединений углеводного ряда с соответствующими контролями, некоторые ферментов (фосфатазы, сукцинатдегидрогеназы) и метода автордиографии и сцинтилляционной радиометрии.

Установлено, что закладка того или иного органа в эмбриогенезе осуществляется в последовательности, соответствующей исторически сложившимся этапам их возникновения.

Органоспецифическая детерминированность эпителиев хрусталика определяется к 15 суткам внутриутробного развития, что выражается в органотипическом росте его в имплантатах с по-

следующей органоспецифической дифференцировкой — образованием хрусталиковых волокон и накоплением в них сульфгидрильных групп. Эпителий конъюнктивы приобретает органоспецифическую детерминированность к 18 суткам внутриутробного развития. Тем не менее, эпителий конъюнктивы сохраняет свои полипотентные свойства у лабораторных животных вплоть до момента рождения.

Эпителий щитовидной и околотитовидной желез и эпителий воздухоносных путей легкого приобретают органоспецифическую детерминированность уже с момента закладки органа. Эпителий головной кишки, из которого развивается и закладывается щитовидная и околотитовидная железы, до 15-тых суток внутриутробного развития сохраняет свои полипотентные свойства. Однако при создании в организме реципиента — соответственно тиреоидной и паратиреоидной недостаточности — эпителий головной кишки, взятый у зародышей до 15 суток внутриутробного развития, в условиях имплантации дает органотипический рост, характерный для эпителиев бранхиогенной группы желез внутренней секреции с последующей органоспецифической и функциональной дифференцировкой.

При нарушениях иннервационных механизмов в зоне имплантации, как правило, проявляются исторически древние свойства эпителиев отмеченных желез как производных эпителиа головной кишки. Выражается это в виде разрастаний этих эпителиев в имплантатах в качестве полиморфных покровных пластов.

Органоспецифическая детерминация воздухоносных путей и респираторных отделов проявляется с момента закладки легких из эпителиа головной кишки уже на 10-е сутки внутриутробного развития. Это выражается в органотипическом росте эпителиа воздухоносных путей и респираторных отделов (вплоть до образования альвеол) в имплантатах.

Эпителий нефронов почек и sustentоциты семенников приобретают органоспецифическую детерминированность с момента закладки органов и в условиях культивирования в организме как у интактных животных, так и при изменении гормонального фона у реципиентов стойко сохраняют свои органоспецифические свойства.

Хрящевая ткань как производная мезенхимы приобретает органоспецифические особенности с момента образования хондрогенных островков (первые хондрогенные островки появляют-

ся у зародышей на 10-е сутки внутриутробного развития вокруг развивающегося спинного мозга). На данной стадии онтогенеза в условиях культур формирующийся из хондрогенных островков хрящ в последующем не замещается костной тканью.

Способность индуцировать остеогенез хрящ приобретает лишь к 13-15 суткам внутриутробного развития, когда в межклеточном веществе его начинает накапливаться хондроитинсульфат А, а затем кератосульфат. Такой хрящ в условиях культур замещается костью с ее органоспецифическими особенностями. Костной тканью в имплантатах замещаются и имплантированные провизорные хрящи.

Хрящи воздухоносных путей и ребер являются хрящами, как правило, не индуцирующими остеогенез.

Реактивные свойства всех выше отмеченных генетически родственных тканей, входящих в состав тех или иных органов, с возрастом снижаются при сохранении органоспецифической детерминированности их. Объем биологических потенций изучаемых тканей находится в прямой зависимости от степени и специфики их функционирования в составе органов.

Представленный фактический материал позволил определить не только этапы становления органоспецифической детерминированности генетически родственных тканей, но и наметить пути (научно обоснованного) выбора материала для трансплантации органов и тканей как в экспериментальных, так и клинических условиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дунаев П.В. Авторадиографические исследования щитовидной железы, культивируемой по методу Ф.М. Лазаренко // Арх. анат. — 1963. — № 10. — С. 40-43.
2. Под ред. А.П. Дунаева. Экспериментальные модели органогенеза и дифференцировки тканей / Свердловск, 1976. — 134 с.
3. Лазаренко Ф.М. Опыт применения нового метода к экспериментальному изменению тканей и его предварительные результаты // Арх. биол. наук. — 1934. — Т. 34., вып. 5-6. С. 707-720.
4. Лазаренко Ф.М. Закономерности роста и превращения тканей и органов в условиях культивирования (имплантации) их в организме. — М.: Медгиз, 1959. — 400 с.
5. Хлыстова З.С. Сравнительное исследование превращений эпидермального и эндодермального эпителиев в культурах в организме // Арх. анат. — 1960. — С. 43.

ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ АНТИГЕНОВ, СПЕЦИФИЧЕСКИХ К ЧЕЛОВЕЧЕСКИМ ГРАНУЛОЦИТАМ, ПРИ ИНДУЦИРОВАННОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ КЛЕТОК ИЗ ЛИНИИ МИЕЛОИДНЫХ КЛЕТОК

С. Ингерпуу, А. Пийрсоо, А. Сюнтер,
А. Пихлак, С.Киви
(Тарту)

Моноклональные антитела (МКАТ) применяются в изучении экспрессии поверхностных антигенов клеток миелоидно-моноцитарных рядов в процессе дифференцировки. К настоящему времени функции некоторых поверхностных антигенов миелоидно-моноцитарных клеток уже выяснены при помощи МКАТ [3, 5].

Материал и методика

В настоящей работе были использованы клеточная линия HL-60 и неизвестная линия X с хромосомными маркерами, характерными для промиелоцитоидной лейкемии, но не являющиеся HL-60.

Эти линии подвергались индукционной дифференцировке под влиянием диметилсульфоксида (DMSO) или ретиноловой кислоты (RA) в направлении полиморфонуклеаров, а также под влиянием 12-0-тетрадеканоилфторбол-13-ацетата (TPA) в направлении моноцитов-макрофагов [1]. В качестве маркеров поверхностных антигенов нами были использованы МКАТ IGR-1 4C7, IGR-1 5B6, IGR-1 5G7 и IGR-2 IA6, первоначально полученные к поверхностным антигенам нейтрофильных гранулоцитов периферической крови человека. Полученные нами МКАТ IGR отличаются от известных в литературе МКАТ, специфически реагирующих с миелоидными клетками.

Молекулярную массу антигенов, выявляемые МКАТ IGR-1 4C7, IGR-1 5B6 и IGR-2 IA6 определяли с помощью иммунопреципитации МКАТ, а также последующего SDS-PAGE электрофореза и автордиографии. Источником антигенов является лизат клеток неизвестной линии X. Белки клеточной поверхности метились [125 I] в присутствии лактопероксидазы [4].

Экспрессию антигенов на поверхности индуцированных кле-

ток HL-60 и промиелоцитоидной линии X исследовали с помощью проточного цитофлуориметра АТС-3000 фирмы "Bruker-Odam". Обе клеточные линии подвергались влиянию индукторов в течение 6 суток. Концентрация индукторов в питательной среде: DMSO — 1,25 процента, ТРА-10 нг/мл, RA-10⁻⁶М. Степень экспрессии антигенов определяли по средней интенсивности специфической флуоресценции положительных клеток (обозн. mean⁺).

Результаты исследования и их обсуждение

МКАТ IGR-1 4С7, IGR-1 5В6 и IGR-2 IА6 преципитировали два гликопротеина с молекулярной массой 140 кД и 280 кД. Результаты обработки клеток неизвестной линии X с нейрамидазой или NaIO₄ [2] показали, что МКАТ IGR-1 4С7 и IGR-1 5В6, очевидно, связываются с карбогидратной частью тождественного антигена, а МКАТ IGR-2 IА6 — с его белковой частью.

Экспрессия антигенов, специфических к МКАТ IGR-1 4С7, IGR-1 5В6 и IGR-2 IА6 на клетках HL-60, не подвергается влиянию индукторов ТРА, DMSO или RA, так как она не отклоняется от уровня экспрессии неиндуцированной культуры. Влияние ТРА на клетки HL-60 повышает экспрессию антигена, соответствующего МКАТ IGR-1 5С7, но остальные индукторы существенного эффекта на экспрессию этого антигена не оказывают. Наибольшая экспрессия изученных нами антигенов на клетках HL-60 выражается в течение 24 часов после смены питательной среды. На клетках промиелоцитоидной линии X экспрессия антигенов, реагирующих с МКАТ IGR-1 5В6, IGR-1 4С7, IGR-1 5С7 и IGR-2 IА6, резко повышается под влиянием всех использованных нами индукторов. Исследуемые нами антигены на клетках линии X больше чувствительны к действию индукторов ТРА и DMSO, чем RA. Самое сильное стимулирующее действие на экспрессию антигенов отмечается в течение первых двух дней, из чего следует, что влияние использованных индукторов не объясняется только индукцией дифференцировки линии X, а на начальном этапе — влиянием на физиологические функции. Сохранение повышенной экспрессии антигенов до конца опыта объясняется тем, что в культуре клеток линии X преобладают уже более зрелые клетки.

Присутствие в питательной среде МКАТ IGR-1 4С7, IGR-1 5В6 и IGR-2 IА6 вызывает интенсивную агрегацию клеток промиелоцитоидной линии X и нейтрофилов периферической

крови в течение одного часа при 37°C. Подобного эффекта не наблюдали с клетками HL-60. МКАТ IGR-1 5G7 не оказывает аналогичного действия на изученные нами клетки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Collins S.J. The HL-60 promyelocytic leukemia cell line: proliferation, differentiation, and cellular oncogene expression // *Blood*. — 1987. — Vol. 70, N. 5. — P. 1233–1244.
2. Но М.-К., Kato К.Р., Dweda P.J. et al. Tissue distribution immunochemical characterization and biosynthesis of 47D10 a tumor-associated surface glycoprotein // *Cancer Res.* — 1987. — Vol. 47. — P. 241–250.
3. Knapp W., Dröken B., Rieber P. et al. CD antigens 1989 // *Int. J. Cancer.* — 1989. — Vol. 44. — P. 190–191.
4. Skubits K.M., Zhen Y., August T. A human granulocyte-specific antigen characterized by use of monoclonal antibodies // *Blood*. — 1983. — Vol. 61, N. 1. — P. 19–26.
5. Wallace P.J., Packman C.H., Lichtman M.A. Maturation-associated changes in the peripheral cytoplasm of human neutrophils: a review // *Exp. Hematol.* — 1987. — Vol. 15. — P. 34–45.

РЕАКТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНЕЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ ПРИ ДЕЙСТВИИ БИОКОМПЛЕКСОВ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ

Н.И. Калетина, Ю.И. Афанасьев

(Москва)

Метаболизм ионов металлов в организме человека связан с их способностью участвовать в многочисленных процессах комплексообразования с эндогенными (углеводами, аминокислотами, витаминами, гормонами и др.) и экзогенными (например, лекарственными средствами) лигандами. Нами [1] показано, что лекарственные препараты, вступая *in vivo* в реакции комплексообразования с металлами (микроэлементами), нарушают металл-лигандный гомеостаз, характерный для любого здорового организма. Путем целенаправленного синтеза можно получить лекарственные средства — биокомплексы микроэлементов, употребление которых может не только восстановить дисбаланс микроэлементов, но и иметь более высокую специфическую активность.

В данной работе обобщены результаты исследований реактивных изменений тканей под действием ряда биокомплексов Fe, Co, Cu, Zn с антибактериальными препаратами (производными адамантана, 5-нитрофурана, 5-нитроимидазола, сульфаниламидов и их углеводных производных-N-гликозиламинов).

Применение биокоординационных соединений микроэлементов с антибактериальными препаратами (АП) и их углеводными производными (гликозидами) предложено нами как способ повышения эффективности лекарственных средств и коррекции нарушения металло-лигандного гомеостаза организма при гнойной инфекции.

Методами светооптической и электронной микроскопии, автордиографии установлено, что введение гликозидов АП и их биокомплексов с Fe, Co, Cu, Zn способствует нормализации процессов синтеза и транспорта хиломикрон в энтероцитах, всасывания жирных кислот в тонком кишечнике, меньшим повреждениям гепатоцитов, умеренной вакуолизации и набуханию дистальных и проксимальных отделов канальцев в почке по сравнению с действием АП. В качестве примера приведем исследование — влияния на структурно-функциональные свойства энтероцитов биокомплексов железа с N-гликозидами АП (NG-АП).

Материал и методика

Эксперимент проводился на белых беспородных крысах весом ~ 140 г. Крысам в течение 7 дней вводили АП, комплекс АП с Fe (II), комплекс NG-АП с Fe(II), их механические смеси. Одна группа животных служила контролем. Каждая группа состояла из 7 животных. Через час после последнего введения лекарств перорально давали 1-1,5 мл хлопкового масла. Затем животных забивали в сроки 5, 10, 30 минут, 1, 3, 6 часов после кормления. Для электронной микроскопии кусочки тощей кишки фиксировали в 1 %-ном растворе OSO_4 и после соответствующей проводки заливали в аралдит. Срезы после контрастирования в уранилацетате и нитрате свинца просматривали в электронных микроскопах jEM-100B и jEM-100S.

Результаты исследования и их обсуждение

Введение биоккомплексов Fe(II) с АП или НГ-АП не вызывает повреждающего действия на процессы всасывания жирных кислот в тонком кишечнике по сравнению с введением АП и механической смеси АП с сульфатом Fe(II). Как известно, синтез триглицеридов, образование хиломикронов, внутриклеточный транспорт вдоль цитоплазматических структур и выгрузка из клетки абсорбированного субстрата — процессы взаимосвязанные и только при согласованной деятельности внутриклеточных структур и ферментных систем энтероцитов обеспечивает оптимальную деятельность клеток. Причиной отрицательного влияния АП на синтез и транспорт хиломикронов, по-видимому, является повреждение клеточных ферментных систем, участвующих в синтезе хиломикронов и их внутриклеточном транспорте вследствие взаимодействия (комплексообразования) с металлами активных центров ферментов, тогда как введение биоккомплекса Fe(II) с АП или НГ-АП не вызывает нарушений в структурно-функциональных свойств энтероцитов.

В печени животных, получавших АП и его механическую смесь с сульфатом Fe(II), наблюдаются однотипные изменения: дистрофия периферической части дольки, некротические изменения гепатоцитов. В печени животных, получавших биоккомплексы Fe(II) с АП и НГ-АП, происходит значительно меньшее поражение гепатоцитов, и оно компенсировано увеличением количества двухъядерных клеток и повышенной митотической активностью гепатоцитов на 5-е сутки. В почках животных, получавших АП и механическую смесь АП с сульфатом Fe(II), отмечается зернистая дистрофия как дистальных, так и проксимальных отделов канальцев; клубочки гиперемированы. Просвет капсулы Шумлянско-Боумена увеличен, в нем — оксифильные гомогенные массы. При введении биоккомплексов Fe(II) с АП и НГ-АП наблюдаются умеренная вакуолизация и набухания, некоторое расширение просвета проксимального и дистального отделов. Пик процесса приходится на вторые сутки, к пятому дню орган возвращается к нормальному функционированию.

Морфофункциональные изменения в микроструктуре селезенки при введении АП и его механической смеси с сульфатом Fe(II) проявляются в сильной инфильтрации красной пульпы. Лимфоидные узелки очень крупные, порой сливаются по 2-3. Обращает на себя внимание резкая лимфоидная пролиферация, в связи с чем трудно различимы границы красной и белой

пульпы. Макрофагическая реакция выражена слабо. При введении бисломокомплексов Fe(II) в лимфатических узелках обнаруживается сильная макрофагическая реакция. В макрофагах — хромофильные шары (остатки фагоцитированных лимфоцитов). Таким образом, бисломокомплексы Fe(II) способствуют развитию компенсаторно-приспособительных реакций в печени, почках, селезенке.

Результаты проведенных исследований большой группы АП и их комплексов с Fe, Co, Cu, Zn позволяет сделать вывод: токсические свойства лекарственных препаратов, имеющих способность к комплексообразованию с металлами *in vivo*, ослабляют реактивные свойства тканей, что, по-видимому, связано с нарушением микроэлементного баланса клетки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Калеткина Н.И. N-гликозиламины и микроэлементы. — Ереван: Изд-во АН Арм. ССР, 1988. — 160 с.

ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИМФОИДНЫХ ОРГАНОВ ПОСЛЕ ИММУНИЗАЦИИ ПЛОДОВ

М.В. Карзов, Н.А. Волошин
(Запорожье)

Изучена относительная масса тимуса и селезенки, площадь лимфоидных бляшек тонкой кишки крыс, которым в плодном периоде вводили различные антигены подкожно или энтерально (в околоплодные воды). Во всех экспериментах отмечено, что антиген, введенный плоду, приводил к развитию у новорожденных и молодых животных тимомегалии, увеличению содержания лимфоцитов в органе и активации секреторной функции эпителиальных канальцев. Площадь лимфоидных бляшек тонкой кишки этих крыс снижалась на протяжении первого и второго месяцев жизни. У всех животных, иммунизированных энтерально, относительная масса селезенки была значительно увеличена. Слабее выражена спленоmegалия после подкожного введения антигена.

Таким образом, следует считать, что функция селезенки в значительной степени связана с формированием ответа на антигены, поступающие в кровь из желудочно-кишечного тракта

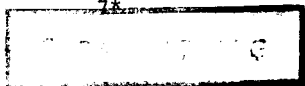
ЭВОЛЮЦИЯ ТКАНЕЙ В РАМКАХ ЭВОЛЮЦИИ ОРГАНИЗМОВ

Г.С. Катинас
(Ленинград)

Более полувека назад [1, 4] был поставлен вопрос, затем сравнительно мало привлекавший к себе внимание, — как происходит эволюция тканей в рамках более сложных систем — организмов, т.е. каково соотношение эволюции частей и эволюции целого [2]. Субъект эволюционных изменений — индивидуум (система организменного уровня), в одной из гамет которого возникают мутации. Они могут проявиться лишь на молекулярном уровне и отразиться на протекании относительно простых синтезов, но могут затронуть и синтез веществ, выполняющих роль эмбриональных индукторов, и тогда изменения онтогенеза могут быть значительны. Если мутации изменяют синтез веществ, определяющих специфику клеточных мембран, в эмбриогенезе тоже сложатся новые качества межклеточных контактных взаимодействий. Разнообразие эволюционных преобразований снижается в ряду: органы — морфо-функциональные единицы — ткани — клетки — органеллы и ядро; так, изучая митохондрии, видовой принадлежности не определить. Между тем, эволюционные изменения происходят на всех уровнях, в том числе и субклеточном, но системы более низкого уровня и более консервативны. Это можно объяснить тем, что эволюция любой системы, состоящей из элементов, совершается двумя путями: за счет эволюции самих элементов и за счет комбинаторики последних: из одинаковых блоков можно построить здания с разным назначением.

В эволюции организма как целостной системы первостепенную роль играют преобразования части генома, которая управляет сочетанием блоков. Она сама, видимо, имеет комплексную организацию и состоит из отделов, управляющих комбинаторикой элементов разных уровней, а также механизмами внутриуровневых и межуровневых морфогенетических корреляций [5]. Тканевая организация эволюционно возникла после клеточной, так же возникли и соответствующие регуляторные части генома.

Концепция о части генома, управляющей комбинаторикой элементов системы, не противоречит представлениям о геноме



как о регуляторе синтезов, поскольку он может быть организован иерархически. так, отделу, ведающему комбинаторикой тканей, должен быть подчинен другой, ведающий комбинаторикой клеток. Продолжая эту цепь, придем к отделу, ведающему комбинаторикой молекул, т.е. кодирующему элементарные синтезы; именно он присущ и низшим организмам, где изучен наиболее.

Схематизируя, представим модель генома как чашу с широким дном [3]. Дно занято концентрически расположенными областями, относящимися к конкретным уровням организации, ответственным за структуру элементов, которые можно обозначить строчными буквами. Область "а" отвечает за структуру на молекулярном уровне "b" — на субклеточном, "с" — на клеточном, "d" — на тканевом, область "п" — на уровне целостного организма. Над ними возвышаются области, ответственные за комбинаторику элементов соответствующих уровней, которые условно можно отметить прописными буквами. Области "а" и "А" совпадают, так как комбинаторика молекул соответствует биохимическим синтезам. Модель не отражает дискретности генома, локализованного во многих хромосомах и распределенного в каждом из них по многим локусам. Между тем, она удобна, в частности, тем, что позволяет понять, почему естественный дискретный поток мутагенов изменяет прежде всего комбинаторные отделы, а среди них — имеющие отношение к более высоким уровням: чем обширнее часть генома, тем выше вероятность ее взаимодействия с внешним потоком информации. Такая модель может объяснить как консервативность эволюции уровней низшего порядка, так и возможность этой эволюции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Заварзин А.А. Об эволюционной динамике тканей // Арх. биол. наук, серия А. — 1934. — Т. 36, вып. 1. — С. 3-64.
2. Катинас Г.С. К 100-летию со дня смерти Дарвина // Арх. анат. — 1983. — Т. 83, вып. 11. — С. 5-6.
3. Катинас Г.С. Эволюция организма — эволюция онтогенеза сложной иерархической системы // Вопросы эволюции онтогенеза // М.: Наука, 1985. — С. 56-61.
4. Хлопин Н.Г. Эволюция эпителиальных тканей и их взаимоотношения с внешней и внутренней средой организма // Арх. биол. наук., серия А. — 1934. — Т. 36, вып. 1. — С. 65-94.

ОСОБЕННОСТИ КОНСТРУКЦИИ, АДАПТИВНЫЕ И ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГЕМОМИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА У НОВОРОЖДЕННЫХ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

А.В. Кораблев, Т.Н. Николаева
(Ярославль)

В настоящей статье обобщаются данные, касающиеся изучения конструкции и патологии гемомикроциркуляторного русла большого сальника умерших в неонатальном периоде детей (108 случаев), родившихся с IV, III, II и I степенями недоношенности. Для выявления микрососудов применялись импрегнационная методика В.В. Куприянова и гистохимические методы Н.Е. Ярыгина и С.В. Панченко.

Конструктивные особенности микроангиоархитектоники органа анализировались с позиции разработанной нами концепции васкулогенеза в раннем онтогенезе [1]. Согласно этой концепции, развитие интраорганной кровеносной системы осуществляется сначала посредством петлевидного роста сосудов. Сосудистая петля состоит из артериального и венозного отделов и верхушки с почкой роста. Затем формируются первые сосуды капиллярного типа, которые названы нами соединительными. Возникают они в результате смыкания между собой почек роста верхушек двух петлевидных сосудов. По ходу соединительных капилляров образуются ангиобластические почки, которые в процессе роста стыкуются с аналогичными ангиобластическими структурами других соединительных капилляров. Так происходит формирование истинных капилляров и капиллярной сети.

Развитие интраорганной кровеносной сети в большом сальнике недоношенных детей идет в направлении постепенной смены петлевидного типа роста сосудов на процесс капиллярообразования. Вот почему у детей с IV степенью недоношенности из общего числа микрососудов, приходящихся на единицу органа, на

долю истинных капилляров приходится лишь 8 %, а у детей с III степенью недоношенности — уже 20 %. При этом наблюдается трансформация части капилляров в прекапиллярные артериолы и посткапиллярные венулы. Морфофункциональная незрелость микрососудистой сети проявляется наряду с этим недоразвитием мышечных структур стенки артериол, артериоларных и прекапиллярных сфинктеров и артериоло-венулярных анастомозов. В итоге кровотока в микроциркуляторном русле таких детей отличается крайне высокой централизацией, поскольку у них через собственно обменные микрососуды проходит лишь небольшая часть крови.

У детей со II степенью недоношенности происходит дальнейшая трансформация микроциркуляторного русла: уменьшается число петлевидных сосудов, увеличивается количество истинных капилляров, на долю которых приходится более 30 %. За счет обогащения гладкими миоцитами резистивных микрососудов и тесно с ними связанных сфинктерных образований происходит усложнение морфологии артериоларного звена микрососудов. Вместе с тем существенная незрелость конструкции системы гемомикроциркуляции и высокая централизация кровотока в ней сохраняется. У детей с I степенью недоношенности содержание истинных капилляров составляет 41 %, а конструкция гемомикроциркуляторного русла приближается к таковой у детей, родившихся в срок.

Морфофункциональное несовершенство системы гемомикроциркуляции сочетается у недоношенных детей с существенными нарушениями центральной гемодинамики [2, 3]. Проведенные нами реовазографические исследования выявили наличие у таких детей первичной функциональной недостаточности сердца, проявляющейся уменьшением сердечного выброса крови, дефицитом поступления ее в ткани и замедлением периферического кровотока. У всех обследованных детей наблюдалась тахикардия, сочетающаяся иногда с аритмией, лабильностью пульса и стойкой гипотонией.

Патология гемомикроциркуляторного русла у недоношенных детей характеризуется комплексом собственно сосудистых и внесосудистых преобразований [4]. Собственно сосудистые изменения проявляются дистонией и парезом микрососудов, внутрисосудистые — патологией реологических свойств крови (ее сгущением, микроагглотромбозом), внесосудистые — отеком интерстиция сальника и диапедезными геморрагиями. Собствен-

но сосудистые изменения обуславливаются несовершенством естественных контрольных структур артериол и венул, внутрисосудистые — первичной сердечной недостаточностью, гиповолемией большого круга кровообращения, дефицитом поступления крови в сосуды и замедлением в них кровотока, а внесосудистые — структурной незрелостью и высокой проницаемостью микрососудов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кораблев А.В. Основные принципы организации гемомикроциркуляторного русла большого сальника человека в раннем онтогенезе // Арх. анат. — 1988. — Т. 94, вып. 2. — С. 18–24.
2. Николаева Т.Н., Дашичев В.В., Чупрунова М.Б. Патология микроциркуляторного русла у детей // Педиатрия. — 1982, № 7. — С. 20–22.
3. Ярыгин Н.Е., Николаева Т.Н., Чурупова М.Б. Патология микроциркуляции в условиях недостаточности притока артериальной крови в ткани // Кардиология. — 1981. — Т. 21, вып. 5. — С. 26–30.
4. Ярыгин Н.Е., Николаева Т.Н., Кораблев А.В. Патологические и адаптивные изменения в системе гемомикроциркуляции // Арх. пат. — 1986. — Т. 48, вып. 3. — С. 38–45.

УЛЬТРАСТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВАРИАНТОВ СТРОЕНИЯ АППАРАТА ГОЛЬДЖИ В ОДОНТОБЛАСТАХ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ БАЛАНСА ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ

О.Н. Королева

(Рига)

Среди органондов одонтобластов аппарат Гольджи во многом определяет функциональную активность клетки. В литературе имеются обстоятельные обзоры, посвященные структуре и функциям этого органонда, но особенности его строения в одонтоблестах при изменении баланса тиреоидных гормонов не обсуждаются совсем.

Целью настоящего исследования явилось изучение ультраструктуры аппарата Гольджи одонтобластов пульпы зубов у эмбрионов белых крыс в норме и при изменении баланса тиреоидных гормонов.

Материалом исследования служили 240 зачатков верхних и нижних зубов эмбрионов белых беспородных крыс в возрасте 18-ти дней внутриутробного развития. Первым днем беременности считали день обнаружения сперматозоидов в вагинальных мазках самок после их спаривания.

Состояние гипертиреоза у самок создавали путем ежедневного введения им под кожу в область бедра L-тироксина фирмы "Реанал" в дозе 20 мкг на 100 г массы тела в течение 10-ти дней до спаривания и во все последующие дни беременности [1]. Гормон вводили в 12 часов дня. По этой же методике состояние гипотиреоза вызывали подкожным ежедневным введением в области бедра мерказолила отечественного производства в дозе 1,5 мг на 100 г массы тела в течение 7-ми дней до спаривания и во все последующие дни беременности. Мерказолил тоже вводили в 12 часов дня.

Оценку функционального состояния щитовидных желез самок после введения указанных препаратов проводили по внешнему виду и поведению животных, по изменениям массы щитовидных желез и тела.

Декапитацию самок и плодов производили под эфирным наркозом. Зачатки зубов извлекали из челюстей под контролем бинокулярной лупы. Кусочки зачатков фиксировали и подготавливали для дальнейшего исследования в световом и электронном микроскопах. Обзорные препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Для выявления белков и различных полисахаридов соответственно использовали прочный зеленый при pH 2,2, метиленовой и толуидиновый синий, ставили ШИК-реакцию с контрольными обработками препаратов.

При исследовании одонтобластов в электронном микроскопе JEM-7A делались фотосъемки и на фотографиях анализировались характерные элементы аппарата Гольджи — цистерны, пузырьки, их содержимое и их соотношение с другими мембранными структурами клеток.

На основе метода визуальной оценки [2] элементов аппарата Гольджи были выделены следующие классы: I — плоские цистерны; II — транспортные пузырьки с хлопьевидным содержимым; III — пузырьки с зернистым содержимым; IV — любые

другие элементы аппарата Гольджи. На основе визуальной оценки соотношения элементов аппарата Гольджи и других мембранных органоидов одонтобластов были выделены такие классы: 1 — пузырьки, отпочковывающиеся от цистерн аппарата Гольджи; 2 — пузырьки, сливающиеся с каналами цитоплазматической сети; 3 — пузырьки, окружающие митохондрии; 4 — любые другие пузырьки.

Используя метод С.Б. Стефанова [3], мы определили среднюю долю данного класса элементов аппарата Гольджи среди всех его элементов и среднюю долю данного класса соотношения пузырьков аппарата Гольджи среди всех его пузырьков.

На основе количественной визуальной оценки установлено, что под действием тироксина в аппарате Гольджи одонтобластов уменьшается доля плоских цистерн, в то время как доли транспортных пузырьков с хлопьевидным и зернистым содержанием увеличиваются; нарастает доля пузырьков, сливающихся с каналами цитоплазматической сети. Результаты гистохимических реакций свидетельствуют о возросшей функциональной активности этих клеток.

Под воздействием мерказолила доля плоских цистерн аппарата Гольджи увеличивается, а доля транспортных пузырьков с хлопьевидным и зернистым содержанием уменьшается. Отсутствуют пузырьки, сливающиеся с каналами цитоплазматической сети. Гистохимические реакции и их результаты свидетельствуют о снижении функциональной активности клеток в этих условиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Детьюк Е.С. Морфофункциональная характеристика щитовидной и паращитовидных желез потомства при экзогенном гипертиреозе материнского организма // *Арх. анат.* — 1976. — Т. 71, вып. 11. — С. 100-104.
2. Стефанов С.Б. Визуальная классификация при количественном сравнении изображений // *Арх. анат.* — 1985. — Т. 88, вып. 2. — С. 78-83.
3. Стефанов С.Б. Визуальная оценка содержания глюкогена в клетках печени с текущим статистическим контролем // *Арх. анат.* — 1981. — Т. 80, вып. 2. — С. 57-61.

ЛИМФОЛЕЙКОЗ КУР

Э. Лешп

(Тарту)

Создание крупных птицефабрик сопровождалось возрастанием числа болезней и частоты проявления их. Заметное место заняли опухолевые болезни птиц, особенно лейкоз и болезнь Марека.

Вирусы болезни Марека и лейкозосаркомной группы повреждают иммунокомпетентные органы (селезенку, клоакальную сумку) и обладают, таким образом, значительной иммунодепрессивной активностью, чем снижают общую резистентность птиц и повышают чувствительность к другим болезням.

Лейкозом заболевают куры, реже индейки, утки и другие виды птиц.

Данная болезнь распространена очень широко. Количество вирусоносителей среди кур 4–12 месячного возраста колеблется от 5 % до 70 % [1].

Источником возбудителя инфекции являются больные птицы и вирусоносители. Из организма птиц вирус выделяется со слюной, с экскрементами и яйцом. Распространение вируса происходит горизонтальным (при контакте) и вертикальным (с яйцом) путями.

Целью данной работы было изучить распространение лейкоза кур в хозяйстве “Авангард” Тартуского района и выяснить, какие виды лейкоза существуют в данном хозяйстве.

Материалом для исследований служили куры и петухи породы белые Леггорны в возрасте 25–40 недель. При выполнении работы использовали клинические, патоморфологические исследования. Всего вскрыли 380 птиц, из них 17 подвергли гистологическому исследованию. Кусочки материала брали из следующих органов: печень, почки, селезенки, сердце, яичники, и фиксировали в 10 %-ном растворе формалина. Материал заливали в целлоидин и срезы из проб окрашивали гематоксилин-эозином.

Клинические признаки лейкоза у птиц не характерные. Можно использовать только отдельные из них. Болезнь протекает хронически. У заболевших птиц отмечали истощение или наоборот ожирение. Больные куры откладывали только до 35 яиц и прекращали откладывание в 11-месячном возрасте. У 67 вскрытых птиц выявили макроскопически лейкозные изменения.

У 30 птиц обнаружили узелковую форму лейкоза, а у остальных, диффузную форму лейкоза. Печень при диффузном поражении была увеличена в несколько раз, и масса достигала 350—500 г, иногда 600 г. Поверхность печени чаще гладкая с серыми и серовато-белыми узелками и пятнами. На разрезе печени выявляются саловидные очаги. При узелковом поражении печень была мраморная или мозаичная. Новообразованная ткань и сама печень различны по цвету (от серо-белого до серо-бурого или других оттенков), консистенция твердая.

Селезенка сильно увеличена, серо-красного цвета, усеяна мелкими узелками серо-беловатого цвета.

Почки — все доли или некоторые из них увеличены в 2—3 раза, серо-белого или серо-коричневого цвета.

Яичники были увеличены в объеме, поверхность органа бугристая, серо-белого цвета, фолликулы атрофированы.

Клоакальная сумка уплотнена и увеличена, на разрезе одиночные серовато-белые саловидные опухолевые новообразования. Стенка кишечника часто очагово или диффузно утолщена в 2 раза, просвет сужен. У некоторых птиц были поражены железистый отдел желудка, сердце, поджелудочная железа и другие органы.

Гистологически в печени между раздвинутыми балками выявили скопления лимфоидных клеток — мелких типа лимфоцитов и крупных — лимфобластоподобных. Лимфоидные скопления обнаруживались преимущественно в зоне триад, реже — в паренхиме вне сосуда. В клетках печени выявили жировую и зернистую дистрофию. В селезенке наблюдали лимфоидные пролифераты, вплоть до полного замещения красной пульпы. В почках — периваскулярные лимфоидные пролифераты узелкового характера. В сердечной мышце — лимфоидные инфильтрации. В кишечнике и в железистом отделе желудка только у 5 птиц наблюдали лимфоидные пролифераты.

Характерными изменениями обследованных птиц являлись изменения клоакальной сумки, в печени, селезенке, в почках. Поражение опухолью клоакальной сумки — это серьезное подозрение на наличие лимфоидного лейкоза. При болезни Марекка более характерные изменения проявляются в яичнике, сердце, железистом желудке, в печени. В отличие от лимфолейкоза при болезни Марекка наблюдаются узелковые лимфоидные опухоли кожи и скелетных мышц. При вскрытиях лимфоидные опухоли кожи не обнаруживались. Возраст исследованных птиц сос-

тавлял в среднем 25–40 недель. Как известно, лимфоидный лейкоз не проявляется раньше, чем в возрасте 16 недель. Гибель птицы наиболее часто наблюдается между 16 и 40-ой неделями. Болезнь Марека наоборот может проявиться уже на 6-й неделе.

Из данных макроскопического и гистологического исследования можно выявить, что исследованные птицы погибли из-за лимфолейкоза.

Отличить болезнь Марека от лимфоидного лейкоза без проведения гистологического исследования несложно, если имеется ряд специфических признаков. Их обычно можно установить, когда есть возможность наблюдать за птицей и ознакомиться с данными по стаду.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коровин Р.Н., Зеленский В.П. Опухолевые болезни птиц. — М., 1984. — С. 21–29.

ОСОБЕННОСТИ ВИТАЛЬНОГО ОКРАШИВАНИЯ НЕЙТРАЛЬНЫМ КРАСНЫМ КУРИНЫХ ЗАРОДЫШЕЙ *in ovo* ВО ВРЕМЯ ГАСТРУЛЯЦИИ И НЕЙРУЛЯЦИИ

У. Лехестик, Р. Райд, Ю. Кярнер
(Тарту)

Витальное окрашивание является классическим методом оценки морфофизиологического состояния клеток, в частности, способности откладывать чужеродный материал в лизосомах и очагах деградации [1].

Раствор (0,7–1 %) нейтрального красного вводили на желточную оболочку яиц кур породы белый Леггорн за 1,5–2 часа до конца инкубации. Изолирование бластодермы фиксировали по методу Мязда [2].

После введения раствора красителя на стадиях развития 3–4 по Гамбургеру и Гамльтону [3] бластодермы не могут продолжать нормальный процесс гастрюляции. Развитие первичной

полоски останавливается, и явно нарушаются морфогенетические движения клеток. Впереди незрелой первичной полоски видны округлые скопления клеток.

Если раствор нейтрального красного вводили на стадиях развития 4-4⁺, то зародыши развивались нормально. Гензеновские узелки таких зародышей окрашиваются очень гетерогенно. Рядом со светло-красными вакуолями располагаются темно-красные гранулы. В некоторых клетках гранулы слипаются между собой и образуют скопления. Они окружены светлой диффузной окаймой. Довольно многочисленные интенсивно окрашенные структуры видны и в межклеточном пространстве. Впереди от гензеновского узелка локализуется презумптивная нейроэктодерма, большинство клеток ее имеет диффузную светло-красную окраску. Только те базальные части её, под которыми располагаются мезодермальные клетки, содержат гранулы. Мезодермальные клетки тоже содержат их.

Во время образования нейтральной трубки гранулы локализуются предпочтительно в базальных частях клеток нейроэктодермы и в презумптивных клетках нейтрального гребня. Гранулы часто образуют скопления, которые окружены окаймой. Поскольку клетки нейтральной трубки имеют удлинённую форму, то эти скопления тоже сорентированы по длинной оси клеток и располагаются латерально в субкортикальной зоне клетки. В стадиях нейруляции все мезодермальные клетки содержат гранулы, но особенно многочисленными они являются в центральной части хордомезодермы, в апикальных и базальных регионах латеральной мезодермы.

По данным литературы, при оптимальных условиях нейтральный красный маркирует лизосомы и вообще очаги деградации [1, 4]. Полученные результаты подтверждают наши предыдущие электронно-микроскопические и цитохимические данные, согласно которым именно в период обособления зародышевых листков клетки характеризуются повышенной катаболической активностью [5].

Это хорошо согласуется и с мнением Светлова [6], что в такой критический период эмбрионы очень ранимы в отношении внешних воздействий.

Следует отметить, что в настоящее время забытый нейтральный красный является удобным маркером для оценки функционального состояния клеток и в раннем эмбриональном развитии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авцин А.П., Шахламов В.А. Ультраструктурные основы патологии клетки. — М.: Медицина, 1979. — 316 с.
2. Maeda R., Thara N., Takada R., Kondo T., Nakano E., Yamota T. A new method for vital staining of central nervous tissues with neutral red // Acta Path. Jap. — 1971. — Vol. 21, N. 1. — P. 151-155.
3. Hamburger V., Hamilton H.L. A series of normal stages in the development of the chick embryo // J. Morphol. — 1951. — Vol. 88, N. 1. — P. 49-92.
4. Budychew A., Trouet A., Tulkens. Uptake and intracellular distribution of neutral red in cultured fibroblasts // Exp. Cell Res. — 1978. — Vol. 115. — P. 343-355.
5. Кярнер Ю.К. Цитологические аспекты детерминации клеток в первичном (генезовском) узелке // Арх. анат. — 1980. — № 12. — С. 36-37.
6. Светлов П.Г. Физиология (механика) развития. Л.: Наука, 1978. — Т. 2. — 264 с.

ВЛИЯНИЕ ЛАЗЕРА НА ПАРАХ БРОМИДА МЕДИ НА ТКАНИ НЕБА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ (КРАТКОВРЕМЕННЫХ ОПЫТАХ)

М.О. Лыви-Калнин, П.О. Роосаар, М.Е. Раар,
Ю.Х. Пинтсон, М.И. Соотс
(Тарту)

В лечении стоматологических заболеваний важная роль в последнее десятилетие отводится лазерной хирургии, в частности, лазерному скальпелю или СО₂ лазеру (А.А. Прохончуков, Н.А. Жижина, 1986 и др.). Кроме этого лазера изучается возможность применения новых и более эффективных хирургических лазеров, в том числе и лазера на парах бромида меди (Cu-Br₂), который находит применение также в нейрохирургии и офтальмологии. С помощью хирургических лазеров можно произвести разные стоматологические операции: удаление доброкачественных опухолей кожи лица и слизистой оболочки полости рта, рецидивов злокачественных опухолей, келоидных и гипертрофических рубцов, уранопластику и др.

Целью в ходе эксперимента произведенных гистологических исследований было, во-первых, определить распространенность и характер повреждения в мягких тканях и костной ткани неба, возникающего вследствие воздействия на них лазером на парах бромида меди. Во-вторых, ставилось целью изучить особенности репаративной регенерации в начальных стадиях этого процесса в эпителии, соединительной ткани и костной ткани неба. (В данном исследовании изучены процессы регенерации в сериях опытов со сроком наблюдения до 10 дней).

Материал и методика исследования

Опыты были поставлены на белых крысах (30 подопытных животных) под эфирным наркозом. Лазером на парах бромида, работающего на квазинепрерывном режиме (длина волны 510,2–578,6 нм, частота следования импульсов — 18 кГц, мощность излучения на конце световода — 5–6 вт), в течение 5–10 сек воздействовали на небо подопытного животного. Кончиком световода по середине неба от резцов до моляров наносили линейный “разрез”; при этом на слизистой оболочке неба появилась коричневая полоса “обугливания” шириной 1–1,5 миллиметра. Наблюдения продолжались 2, 3, 4, 5, 7 и 10 дней, причем в каждой серии опытов было по 5 животных. По окончании срока наблюдения животных вывели из опытов. Твердое небо отделили целиком, единым блоком. В макропрепарат входили как мягкие ткани, так и кость неба. Тканевые кусочки препарата неба фиксировали в 10 %-ном растворе формалина и декальцинировали в 5 %-ном растворе азотной кислоты. Материал заливали в целлоидин. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином.

Результаты исследования

Во всех препаратах было обнаружено повреждение, которое внешне можно сравнить с термическим ожогом, охватывающим как мягкие ткани, так и костную ткань неба. При этом распространение повреждения сильно варьировало.

В опытах продолжительностью 2 дня в области твердого неба повреждение было различным по охвату тканей. Наблюдалось обширное повреждение мягких тканей. По соседству с участками некроза — гиперемия, кровоизлияния, умеренная лейкоцитарная инфильтрация. Во всех опытах под слизистой оболочкой

неба отмечалась также реакция со стороны периоста. В большинстве случаев повреждена и кость неба. В костных каналах наблюдалось расширение или разрыв кровеносных сосудов.

В опытах со сроком наблюдения 3 дня повреждение охватывало главным образом мягкие ткани. По соседству с поврежденным "термическим ожогом" тканями отмечалось значительное накопление гранулоцитов и лимфоцитов; гиперемия и кровоизлияния. Периост умеренно утолщенный. Костные каналы местами расширены. По соседству с участком повреждения на 3-ий день в костной ткани усугубление процессов разрушения не наблюдается.

Таким образом, на 2-3-тий день после повреждения преобладают первые фазы асептического воспаления — накопление гранулоцитов и лимфоцитов на месте очага повреждения.

В опытах со сроком наблюдения 4 дня разрушительные процессы в мягких тканях неба несколько усугубились. Однако, как правило, образовалась демаркационная линия, отделяющая поврежденные ткани от неповрежденных. Некротические части тканей отторжены. Поблизости с очагом повреждения кроме гранулоцитов и лимфоцитов отмечалось также множество макрофагов. В костной ткани каналы расширены, в каналах учащен разрыв кровеносных сосудов. Местами наблюдался некроз костной ткани. Более обширного остеопороза в окружности очага повреждения не было. По краям раны, где эпителий неповрежденный, отмечался интенсивный митоз клеток.

Опыты со сроком наблюдения 5 дней по своим морфологическим изменениям существенно не отличались от картины, наблюдаемой в опытах продолжительностью 4 дня. Продолжается реакция макрофагов и в соединительной ткани, поблизости с раной началось пролиферация фибробластов. Раневая поверхность очищается. Окончательно определились границы очага повреждения, а также объем кости, подвергающейся резорбции. В области краев раны началось образование покрывательного эпителия, что происходит все же еще медленно.

В опытах продолжительностью 7 дней в разных гистологических препаратах морфологическая картина была весьма различной. В некоторых случаях в очаге деструкции отмечались массы тканевого распада, окруженные утолщенным демаркационным валом. Участками наблюдалось пролиферация фибробластов и в некоторых препаратах образование молодой соединительной ткани на дне раны. В эпителии происходит активный

процесс митоза клеток. Разрушение кости, прилегающей к мягким тканям, стабилизировалось. Размеры разрушенной кости определились окончательно, но в то же время также не отмечается существенного восстановления костной ткани. По краям раны местами идет умеренная эпителизация.

В опытах со сроком наблюдения 10 дней процесс асептического воспаления продолжается. По краям раны наблюдается множество лейкоцитов, продолжается также реакция макрофагов и пролиферация фибробластов. В то же время местами происходит довольно интенсивное образование молодой соединительной ткани и ее покрывание по краям раны эпителием.

Заключение

Проведенные морфологические исследования показали, что границы очага поражения в разных опытах значительно отличаются, что объясняется, очевидно, техническими неточностями (разная экспозиция, изменения мощности излучения лазера во время опытов). В связи с этим в некоторых опытах наблюдался только ограниченный очаг повреждения мягких тканей. В большинстве же случаев возникало довольно обширное повреждение, кроме мягких тканей была также повреждена костная ткань. Характерным явилось и то, что в течение первой недели после нанесения лазерного "разреза" разрушение мягких тканей нарастало. Процесс заживления раны находился в зависимости от объема повреждения тканей и протекал как типичное асептическое воспаление. В зависимости от интенсивности пролиферации молодой соединительной ткани эпителизация происходила довольно быстро. Проведенные нами экспериментальные исследования касаются процесса заживления раны после воздействия лазером на парах бромиды меди, обладающей высоким коэффициентом поглощения тканевой жидкости, на область неба в кратковременных опытах. Для выяснения окончательных результатов репаративной регенерации, очевидно, необходимы опыты с более продолжительным сроком наблюдения (до 20 дней и более). Возможно, что и для костной ткани характерны при повреждении лазером на парах бромиды меди более поздние сроки деструкции. Об этом свидетельствуют расширенные костные каналы и трабекулы. (Результаты гистологических исследований в опытах с более длительными сроками наблюдения будут опубликованы в последующих работах.)

ЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИНКА В ПЕЧЕНИ И ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ ПРИ ИЗБЫТКЕ ЭТОГО ЭЛЕМЕНТА В ОРГАНИЗМЕ

Ю.Г. Марков, Н.И. Берзинь
(Рига, Саласпилс)

В регуляции обмена цинка печень занимает одно из важных мест [2], причём её функциональные нарушения сопровождаются изменением обмена и ряда других микроэлементов. Так, в частности, поражения печени приводят к возникновению относительной иодной недостаточности и развитию эутиреоидного зоба. Чрезмерное употребление пищи с высоким содержанием элементов IIВ группы (цинк, кадмий, ртуть, видимо, может также вызывать иодную недостаточность из-за затруднения всасывания последнего по причине образования многочисленных комплексных соединений типа $K_2[HgI_4]$ и т.п. в токой кишке.

В данной работе изучено распределение цинка в печени и щитовидной железе, а также изменения массы последней в условиях потребления цыплятами корма с различным содержанием цинка.

Материал и методика

Эксперименты проводили на шести группах 6-дневных цыплят породы белый Леггорн, линии Хайсекс белый кросс. Первая группа получала основной рацион (ОР), содержащий 23 мг Zn/кг корма, а 2-6 группы дополнительно к ОР получали соответственно 50, 500, 1000, 2000 и 4000 мг Zn/кг корма в виде хлористой соли. Через 14 дней от начала эксперимента, а также после его завершения (через 42 дня) определялась масса щитовидной железы, которая выражалась в мг/100 г живой массы цыплёнка. Выявление цинка в клетках печени и щитовидной железы осуществляли с помощью реакции сульфид — серебро, а нейтральных гликозоаминогликанов — ШИК-реакции. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили по Стьюденту.

Результаты исследования и их обсуждение

При исследовании гистологических препаратов цинкположительный материал в виде гранул восстановленного серебра (ГВС) в гепатоцитах контрольных животных локализовался на билиарном полюсе клетки вблизи желчных капилляров и вероятно представлял собой цинк, депонированный лизосомами. Помимо упомянутых цинксодержащих структур у животных 5 группы на билиарном полюсе гепатоцитов обнаружены ШИК-положительные везикулы, окаймлённые мелкими ГВС. У птиц 6 группы билиарный полюс большинства гепатитов был заполнен цинкположительными везикулами, причём в некоторых из клеток они занимали всю цитоплазму. Часть указанных перибиллиарных везикул являются, по-видимому, лизосомами, накапливающими цинк. Другие же могут быть производными пластинчатого комплекса и гладкого эндоплазматического ретикулума, в которых при затруднении выведения желчи из гепатоцитов накапливаются ШИК-положительные компоненты желчи, обладающие свойствами цинксвязывающих лигандов. Этому процессу, по нашему мнению, способствует перегрузка гепатоцита цинком. Как известно, трансцеллюлярный транспорт компонентов желчи в эндоцитозных везикулах осуществляется с помощью микротрубочек [4], сборка которых нарушается при избытке цинка в цитоплазме [1]. Включения гликогена, видимо, также способны связывать катионы цинка.

В щитовидной железе ГВС выявляются в коллоиде (тироксин обладает сильными хелатообразующими свойствами) и на апикальном полюсе — в виде полосы, окаймляющей поверхность клетки. Скопление ГВС в указанном регионе, по-видимому, связано с высокой активностью АТФ-азной помпы апикальной мембраны тироцита, осуществляющей трансмембранный транспорт иода в коллоид. Этот фермент локально связывает катионы цинка, которые с P_n образуют плотные осадки. На 14 день эксперимента фолликулы щитовидной железы животных 4 группы были увеличены в размерах по сравнению с контролем за счёт накопления в них коллоида. Развитие картины коллоидного зоба у птиц этой группы мы связываем с тем, что при действии избытка цинка на микротрубочки тироцита резорбция коллоида может подавляться более сильно, чем секреция тироглобулина, как это наблюдалось при охлаждении животных [3]. Масса железы (мг/100 г) также статистически достоверно увеличивалась (с $7,25 \pm 0,37$ в 1 группе до $10,74 \pm 0,89$ в 4 группе). У живот-

ных 5 и 6 групп, напротив, масса органа не увеличивалась, что, вероятно, является причиной нарушения всасывания иода в тонкой кишке с последующим ослаблением синтеза тироглобулина. Через 6 недель эксперимента у животных 2, 3 и 4 групп масса железы (мг/100 г) снижалась с $12,072 \pm 2,1$ в 1 группе до $7,55 \pm 0,75$ в 4 группе. Можно предполагать, что указанный процесс также является следствием развития относительной иодной недостаточности. У птиц 5 и особенно 6 группы масса железы превышала таковую у птиц 4 группы, что может быть связано со стимуляцией щитовидной железы ТТГ в ответ на снижение синтеза тироксина при недостатке иода.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gaskin F., Kress Y., Brosnan C., Bornstein M. Abnormal tubulin aggregates induced by zinc ions in organotypic cultures of nerve tissue // *J. Neuropath. Exp. Neurol.* — 1978. — Vol. 37, N. 5. — P. 616.
2. Gupta G.S., Gupta M.P. Tissue and subcellular distribution of $^{65}\text{Zinc}$ in normal and zinc sulphate administered rats // *Indian J. Exp. Biol.* — 1987. — Vol. 25, N. 1. — P. 328-332.
3. Morya T. Cytological changes induced by low temperature in the thyroid glands of larvae of the salamander *Hynobius retardatus* // *Gen. Compar. Endocr.* — 1983. — Vol. 49, N. 1. — P. 8-14.
4. Sakisaka S., Oi Cheng N.G., Boyer J.L. Tubulovesicular transcytotic pathway in isolated rat hepatocyte couplets in culture: Effect of colchicine and taurocholate // *Gastroent.* 1988. — Vol. 95, N. 3. — P. 793-804.

О ВЛИЯНИИ ТИРОКСИНА НА ЧИСЛО И ЛОКАЛИЗАЦИЮ snRNP-СОДЕРЖАЩИХ ГРАНУЛ В ЯДРАХ КЛЕТОК МИОКАРДА КРЫСЫ

Р. Массо, Р. Уйбо

(Тарту)

Особое место в ядерных посттранскрипционных процессах занимают низкомолекулярные RNP, среди которых отдельным классом выделяют snRNP или U-RNP, участвующие в матурации транскрибированных молекул RNA. В нуклеоплазме ядер животных клеток определены пять типов snRNP с числом копии до 10^5 в одном ядре и целый ряд более редких

типов. Эти частицы построены из 5–9 молекул полипептидов и 1 молекулы RNA, длиной 100–250 нуклеотидов. Все молекулы snRNP имеют ряд общих признаков: триметильную сарструктуру в 5'-конце ($m^{2,2,7}pppG$), внутреннюю последовательность по типу AUUUUUG и связь с комплексом полипептидов, дающих молекуле snRNP антигенные свойства по типу "Sm" или "RNP". Известно, что молекулы snRNP участвуют в процессах сплайсинга молекул pre-mRNA и pre-rRNA [3, 4]. В образовании функциональной единицы сплайсинга-сплайссеосомы участвуют U_1 -snRNP, U_2 -snRNP, U_4 -snRNP, U_5 -snRNP и U_6 -snRNP. Структурные связи между сплайссеосомами и другими мелкими морфологическими структурами в нуклеоплазме малоизучены.

Использование моноклональных антител, вырабатываемых против snRNP, позволило бы уточнить локализацию и функцию этих структур. Однако получение таких моноклональных антител является сложной проблемой. Поэтому для решения данного вопроса нами был выбран другой, альтернативный путь. Известно, что в организме больных аутоиммунологическими заболеваниями (*lupus erythematosus*, ревматоидный артрит и др.) образуются антитела в высоком титре против ядерных структур собственных клеток, в том числе и Sm-антитела и RNP-антитела. Мы изолировали эти антитела из сыворотки больных (диагноз: *lupus erythematosus*) и провели иммуноцитохимическую реакцию на сверхтонких срезах для электронной микроскопии, используя для выявления локализации антител меченный золотом протект-А.

Методика

I Получение антигена.

Ядра изолировались из печени крысы. Разрушение ядер и изолирование антигенов "Sm" и "RNP" проводили по методике Kinlaw et al. [2]. После разрушения и экстрагирования ядер (0,4M NaCl; 0,001M MgCl \cdot 6H $_2$ O; 0,04M Tris-HCl; pH7,9) полученный супернатант подвергался 3-ступенчатому диализу и очистке при помощи DEAE-целлюлозной хроматографии. Для элюирования U_1 -snRNP (антиген "RNP") был использован 0,15M NH $_4$ Cl, для U_2 -snRNP, U_4 -snRNP, U_6 -snRNP (антиген "Sm") — 0,3M NH $_4$ Cl.

II Получение антител

Изоляция IgG из селективированных сывороток проводилась

при помощи DEAE-целлюлозной хроматографии после предварительного селективного осаждения белков насыщенным раствором $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Для изолирования специфического IgG против антигенов "Sm" и "RNP" пользовались аффинной хроматографией в колонне Sepharose 4B, активированным при помощи CNBr. Конечное содержание белка в фракции антител составляло 0,54 мг/мл.

III Электронно-микроскопическую цитохимию проводили по методике Bendayan [1] на сверхтонких срезах. Материал из миокарда фиксировали в 2,5 %-ном растворе глутарового альдегида, забуференным какодилатом. Постфиксацию осмием не проводили. Ткань заливали в эпох-812. В некоторых случаях перед иммуно-реакцией проводили обработку 10 %-ным раствором H_2O_2 и 0,2М раствором EDTA для выявления RNP-содержащих структур. Электронограммы анализировали стереологически. Данные обрабатывались статистически на ЭВМ "Apple-II".

IV Моделью служил миокард крысы с различным тиреоидным статусом.

I группа — контрольные или эутиреоидные животные;

II группа — стадия активации внутриядерных процессов, однократное введение тироксина в дозе 25 мкг/100 г веса; спустя 4 и 6 часов после инъекции;

III группа — стадия гипертрофии миокарда, вызванная ежедневным введением тироксина в дозе 50 мкг/100 г веса в течение 32 дней;

IV группа — стадия регрессии гипертрофии миокарда; спустя 7, 14 и 28 дней после прекращения ежедневных инъекций тироксина.

Результаты и обсуждение

Зёрна иммунозолота, указывающие места расположения антигенов типа "Sm" и "RNP" (входящие в состав сплайссеомы), располагаются как в ядрах кардиомиоцитов, так и интерстициальных клеток идентично — на границе эухроматина и гетерохроматина. После проведения регрессивного окрашивания 0,2М раствором EDTA для выявления RNP-содержащих структур выяснилось, что зёрна коллоидного золота располагаются среди RNP-содержащих частиц, интерхроматиновых и перихроматиновых гранул.

Таблица 1

Численная плотность зёрен иммунозолота
(количество зёрен в мкм^3)

Группа	В ядрах кардиомиоцитов	В ядрах интерстициальных клеток
I Контрольные животные	21,3 ± 3,7	29,7 ± 3,4
II Однократное введение тироксина		
а) 4 ч после инъекции	12,5 ± 4,1*	12,7 ± 2,9*
б) 6 ч после инъекции	28,7 ± 7,0	30,9 ± 2,8
III Хроническое введение тиро- ксина (32 дня)	11,7 ± 3,4*	19,1 ± 1,6*
IV Регрессия гипер- трофии миокарда		
а) 7 дней	7,7 ± 3,3*	20,2 ± 1,6*
б) 14 дней	13,2 ± 5,1	67,3 ± 1,6*
в) 28 дней	—	18,3 ± 6,1*

* — достоверное различие ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой.

Данные стереологического анализа электронограмм приведены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, в ядрах кардиомиоцитов активация генома (однократное введение тироксина в дозе 25 мкг на 100 г веса тела животных) вызывает первоначальное уменьшение количества метки (4 часа после введения гормона), после чего происходит увеличение числа метки в ядрах (6 часов после введения гормона). В гипертрофированных клетках (32 дня ежедневного введения гормона в дозе 50 мкг на 100 г веса тела) число метки в кардиоплазме существенно ниже, чем при эутиреоидном статусе. Пониженное содержание сплайссеосом отмечается также в фазе регрессии (7 и 14 суток после прекращения ежедневных инъекций гормона).

В ядрах клеток соединительной ткани в фазе регрессии отмечается значительное увеличение числа метки к концу 2-ой не-

дели регрессионного периода. К 28-му дню регрессионного периода численность сплайссеосом статистически не отличается от контрольного состояния.

Результаты данной работы указывают на то, что динамика численности сплайссеосом в ядрах кардиомиоцитов и интерстициальных клеток имеет различный характер. Увеличение числа сплайссеосом в ядрах интерстициальных клеток миокарда во время регрессионной фазы гипертрофии сердца может быть связано с увеличением синтеза протеолитических ферментов в этих клетках [5], что в свою очередь может служить важным фактором в процессе восстановления миокарда.

ЛИТЕРАТУРА

1. Beadayan M. Protein-A-gold electron microscopic immunocytochemistry: methods, applications, and limitations // J. Electron Microscopy Technol. — 1984. — Vol. 1. — P. 243-270.
2. Kinlaw C.S., Robbertson B.L., Berget S.M. Fractionation and characterization of human small nuclear ribonucleoproteins containing U₁ and U₂ RNAs // J. Biol. Chem. — 1983. — Vol. 858. — P. 7181-7189.
3. Lerner M.R., Boyle J.A., Mount S.M., Wolin S.L., Steitz J.A. Are snRNPs involved in splicing? // Nature. — 1980. — Vol. 283. — P. 220-224.
4. Sharp Ph.A. Biology, oncology, and RNA splicing // Cancer. — 1987. — Vol. 59. — P. 1697-1708.
5. Zak R., Martin A.F., Reddy M.K., Rabinowitz M. Control of protein balance in hypertrophied cardiac muscle // Circ. Res. — 1976. — Vol. 38, suppl. 1. — P. 145-150.

РЕАКТИВНЫЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ИМПЛАНТАТАХ ДМБА-СОДЕРЖАЩЕГО ВОСКОВОГО ШАРИКА В ЭНУКЛЕИРОВАННЫХ НАДПОЧЕЧНИКАХ У КРЫС

И.И. Месиля

(Тарту)

Хорошо изучен экспериментальный канцерогенез под влиянием 1,2-диметилбенз(а)антрацена (ДМБА). Выяснено, что маленькие дозы канцерогена при длительном действии вызывают

опухоль с большей вероятностью, чем однократная большая доза [3]. Поэтому надо прибегнуть к прибавлению к канцерогену и воску разных материалов, чтобы замедлить освобождение канцерогена.

Целью настоящей работы являлось изучение реактивных гистологических изменений в знуклеированных надпочечниках, имплантированных в брюшную полость вместе с шариком из воска и канцерогена ДМБА. При помощи специального инструмента изготовили шарики из пчелиного воска, спирта, кашелотового жира, активированного угля и канцерогена. Шарики были одинакового диаметра (2 мм) и веса (3,7 мг) и содержали 0,038 мг ДМБА.

В опытах использовали 38 крыс, у которых была произведена под эфирным наркозом двусторонняя адреналэктомия. Удаленные надпочечники знуклеировали *in vitro* по Эвансу [2], и после выщущивания паренхимы в образованную полость помещали шарик. Затем произвели аутотрансплантацию обоих надпочечников в брюшную полость под край селезенки. 10 крыс из них являлись контрольными, у них шарик не содержал ДМБА.

Животных умерщвляли через 4, 6, 8, 10, 12 месяцев после имплантации шариков. Из фиксированных в 10 %-ном растворе нейтрального формалина трансплантатов изготовили парафиновые гистологические срезы толщиной 7 мкм, которые были окрашены гематоксилином и эозином, гематоксилином и пикрофуксином по ван Гизону и альциановым синим.

При изучении препаратов были выделены очаги инородного материала и адренокортикального регенерата, участки соединительной ткани и лимфоцитарного инфильтрата. Эти зоны изображались на гистотопограммах, приготовленных по методу, предложенному А.Ю. Труушьльдом [1].

Через 4 месяца после операции отмечалось сохранение инородного материала в виде целостного шарика, либо деление его соединительно-тканными перегородками на сегменты. Участки инородного материала окружены соединительно-тканной капсулой. Коллагенные волокна и их пучки расположены в основном концентрически вокруг инородного материала. Адренокортикальный регенерат образован узлами, в которых отмечаются узкая клубочковая и более широкая пучково-сетчатая зоны. В регенерате видны расширенные капилляры и микрогеморрагии.

Спустя 6 месяцев видно, что названные структурные элементы у отдельных крыс представлены в неодинаковой степени. По

сравнению с предыдущим сроком опытов соединительной ткани значительно больше. Каких-либо признаков опухолевого роста в 4- и 6-месячные сроки не отмечено.

Через 8 месяцев от начала опыта изменения в трансплантатах крайне разнообразны. Инородный материал сохранился в неодинаковой степени. Адренкортикальный регенерат был выявлен не во всех препаратах, а в тех, где он имелся, очаги регенерата были небольшими и имели явно выраженные дистрофические изменения. В одном случае в соединительно-тканной капсуле отмечались группы атипичных клеток, где фибробласты увеличены по размерам, ядра их гиперхромные, волокнистые структуры расположены неравномерно. Эти изменения говорят о начавшемся опухолевом росте соединительной ткани.

Через 10 месяцев от начала опыта в соединительной ткани, окружающей инородный материал, у четырех крыс из девяти микроскопически отчетливо видны опухолевые разрастания, а в трех случаях они видны и макроскопически. Макроскопически выявленные опухолевые разрастания имели разные размеры: от нескольких мм до 7-8 см в диаметре. Эти разрастания представляли собой светло-серовато-розовые образования, сросшиеся с селезенкой, желудочком, тонким кишечником и левой почкой. Консистенция опухолевых узлов была плотноватой. Гистологически во всех случаях наблюдалась плотничная картина фибросаркомы, где паренхиму образуют веретенообразные клетки типа фибробластов гиперхромными ядрами и коллагеновые волокна, соединенные в неравномерные пучки. Стромой опухоли является кровеносные сосуды и периваскулярная ткань. В одном случае была обнаружена картина рабдомиосаркомы, в которой видны крупные атипичные миосимплексы.

Спустя 12 месяцев в четырех случаях из пяти выявлены опухолевые макроскопические образования с гистологическим строением фибросаркомы. Особый интерес представляет один случай, при котором микроскопически наряду с основной опухолевой массой фибросаркомы обнаружены атипичные железистые структуры, светлые крупные клетки и маленькие темные клетки. В этом случае была выявлена прогрессия эпителиальной опухоли, так как наряду с более дифференцированной аденокарциномой встречаются и участки анаплазированной опухоли типа скирра. Можно предполагать, что эпителиальная часть опухоли исходит из поджелудочной железы.

Таким образом, злокачественная опухоль соединительно-

и Келликера следует рассматривать как классический пример эклектического построения, основываемого на “соединении разнородных взглядов, идей, принципов или теорий” [21, с. 789]. Как эклектические, естественно, должны рассматриваться и различные варианты этой классификации. Это относится, в частности, к широко пропагандируемой А.А. Клишовым [7, 8] системе тканей на основе их “органоспецифической детерминации” и к “комплексной классификации” тканей высших позвоночных И.И. Борисова, П.В. Дунаева и А.М. Важанова [2].

Вопрос о рациональной классификации тканей продолжает сохранять свою актуальность. Это отметили А. Хэм и Д. Кормак в последнем издании своего руководства по гистологии: “Принятое деление тканей организма на четыре основных типа в ряде отношений неудовлетворительно” [17, с. 267].

Признаки, на которых может быть построена система подчиненных понятий или классов объектов, различны. Выбор их, однако, дело далеко не простое. На это обратил внимание 170 лет назад Карл Бэр в незаконченной работе, посвященной общим принципам классификации. Уцелевшие три части рукописи, хранящиеся в ленинградском отделении Архива Академии Наук СССР (фонд 129, опись 1, № 211), опубликованы историком С.Р. Мижулинским в переводе Т.И. Коншиной. Особый интерес представляет первая часть этой работы — “Различия между искусственными и естественными классификациями тел природы”.

По мысли К. Бэра, каждая система имеет свои задачи, и поэтому должны быть различными источники, из которых они “черпают признаки для своих построений” [1, с. 367]. “Искусственная система должна быть простым регистром” [1, с. 367], и чем проще она будет построена, тем удачнее может быть ее применение. Поэтому при выборе для нее признаков следует отдать предпочтение внешним перед внутренними. Иными словами, “вся система основывается на потребностях естествоиспытателя” [1, с. 368]. В противоположность этому, естественная система “должна объединить те предметы, которые наиболее сходны по выявлению своего общего содержания. Она, следовательно, основывается на самой природе. Отсюда и ее название... Поэтому для искусственного метода больше подходит слово «классификация», а для естественного «система»” [1, с. 369].

Эти соображения К. Бэра спустя более чем 100 лет развивал А.Н. Северцов, анализируя признаки, используемые системати-

ками при классификации животных. Для понимания эволюции, — писал он, — “была бы... чрезвычайно полезна” биологическая систематика, которая базировалась бы на “биологически и морфологически важных признаках, а также на коррелятивно связанных с ними особенностях” [14, с. 121].

К такому же, но еще более четко сформулированному выводу приводит нас и философский анализ классификации понятий. Классификации разделяются на естественные и искусственные (к их числу относятся так называемые вспомогательные) по степени существенности оснований деления. “Если в качестве основания берутся существенные признаки, из которых вытекает максимум производных... то такая классификация называется естественной” [6, с. 257]. Небольшое, но важное уточнение вносит в это определение Б.М. Кедров. Искусственные классификации, — пишет он, — основываются на одном или немногих произвольно выбранных признаках, естественные же “на совокупности всех наиболее существенных” (подчеркнуто мною, В.М.) [5, с. 62].

Лучший пример искусственной классификации очень большого вспомогательного значения дает нам “закон параллельных рядов тканевой эволюции” А.А. Заварзина в его последних формулировках [3, 4]. Им была полностью преодолена имевшаяся ранее абсолютизация принципа параллелизма и дано обоснование для эмпирического разделения тканей на 4 морфофизиологические группы, обеспечивающие основные элементарные функции многоклеточного организма. При этом должное внимание стал уделять А.А. Заварзин происхождению тканей, и, больше того, необходимости генетического анализа клеток сомы. “Возможность новой разработки материалов по этому вопросу, — писал он незадолго до смерти, — несомненно свяжет в тесный комплекс генетику, гистологию и эмбриологию” [4, с. 285]. По сути дела, А.А. Заварзин подошел вплотную к созданию естественной системы тканей.

Для классификации тканей второстепенные признаки, разумеется, используют многие гистологи, однако не столь успешно. Так, А.Н. Студитский предложил в качестве ведущего критерия их “пластические свойства” [15] с выделением четырех отдельных групп: эпителизирующие, заполняющие, опорные и связующие. На конференции в Алма-Ате, где А.Н. Студитский делал свой доклад, отмечали не только субъективный подход автора к важному вопросу, но и недостаточную продуманность “новой

классификация” в целом. Вряд ли можно считать достаточно продуманной и классификацию тканей Д.С. Саркисова [13], предложившего в качестве основного критерия “тип регенерации” (внутриклеточный и клеточный), хотя она и может быть использована в качестве вспомогательной при анализе восстановительных процессов.

Требованиям, которым удовлетворяет в гистологии естественная классификация, отвечает пока генетическая (филогенетическая) система Н.Г. Хлопина [17, 18]. “В основу гистологии, — писал он, — должен быть положен не внешний вид гистологических структур, не их отдельные морфологические и функциональные особенности при нормальных условиях, ... а исторический принцип, то есть филогенетическое развитие тканей, отраженное с большей или меньшей полнотой в онтогенезе и проявляющееся во всей совокупности их изменений при экспериментальных и патологических условиях” (подчеркнуто мной, В.М.) [18, с. 33].

Тщательное изучение Н.Г. Хлопиным и его учениками различных тканей млекопитающих в условиях тканевых культур при их росте вне организма и в ходе репаративной регенерации позволило ему выделить 7 тканевых типов: энтеродермальный, эпидермальный, целодермальный, нефродермальный, нейральный, миотомный и энтомезенхимный. Вместе с тем было показано, что три группы тканей общепринятой классификации (эпителий, соединительная ткань, мышечная ткань) представляют собой генетически сборные образования и что к одному и тому же тканевому типу могут относиться ткани в морфофизиологическом отношении разные.

Н.Г. Хлопин никогда не считал созданную им “естественную систему гистологических структур” законченной и призвал к дальнейшей ее разработке с внесением необходимы “исправлений, дополнений и уточнений” [20, с. 486]. В настоящее время разработку эту необходимо производить с учетом достижений молекулярной биологии и общей теории систем при широком использовании современных методов исследования (электронная радиоавтография, цитофотометрия, иммуноморфология). Очень много может дать выявление различными экспериментальными методами морфологических потенций тканей беспозвоночных животных.

В связи со сказанным нельзя не вспомнить одно из сообра-

жений К. Бэра, уточняющее различия между искусственными и естественными классификациями. “Искусственную систему, — писал он, — можно скорее довести “до некоторого ее совершенства”, чем естественную, так как последняя “всегда будет подвергаться изменениям... в связи с состоянием научных знаний своего времени” [1, с. 370].

Несомненно, Н.Г. Хлопин и его сотрудники, выявляя объем “потенций” той или иной ткани в условиях роста вне организма, объективно производили систематический анализ природы (то есть наследственности) образующих ее клеток. Вот почему на всесоюзном симпозиуме “Морфология и генетика”, который проходил в 1973 г., я выставил положение о том, что филогенетическая система тканей Н.Г. Хлопина “органически входит в учение о генетике соматических клеток” [11, с. 29], то есть в “эпигенетику”, которую К. Уоддингтон с полным основанием предложил рассматривать как “ветвь биологии, изучающую причинные взаимодействия между генами и их продуктами, образующими фенотип” [16, с. 18–19]. Это относится как к клеткам организма (клеточная дифференцировка или гистогенез), так и к его геометрической форме (морфогенез).

Вот почему, следуя мысли моего учителя Николая Григорьевича Хлопина, я давал определение ткани как частной системы организма, состоящей “из клеток с одинаковым образом реализуемой эпигенетической... наследственностью” [9, с. 99]. Определение это связывало современные данные о генетике соматических клеток с эволюционными представлениями о филогенетической обусловленности всех свойств тканей многоклеточных животных. Несколько позднее я счел необходимым подчеркнуть, что естественная филогенетическая система тканей Н.Г. Хлопина “уже сейчас органически входит в учение о генетике соматических клеток” [10, с. 31]. Исследования по генетике соматических клеток, проведенные за последние годы, уточнили имевшиеся ранее представления об организации генома эукариот и его изменениях в ходе онтогенеза. В частности, сейчас установлено, что “клетки в пределах одной ткани имеют одинаковый эпигенотип облигатных компонентов генома, но могут различаться эпигенетически по его факультативным компонентам” [12, с. 32]. На большом экспериментальном материале подтверждено, что соматические клетки, развивающиеся в популяциях, “не обнаруживают утраты признаков присущей им тканевой специфичес-

ти" [12, с. 35]. Обстоятельство это имеет принципиальное значение для одного из наиболее важных разделов биологии тканей.

Все это дает основание считать, что единственную пока естественную систему тканей, основанную на генетическом принципе, правильнее всего в настоящее время обозначать не как филогенетическую, а как эпигенетическую.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бэр К.М. Об искусственной и естественной классификации животных и растений // *Анналы биологии*. — М., 1959. — Т. 1. — С. 367-383.
2. Борисов И.Н., Дунаев П.В., Бажанов А.Н. Основы тканевой организации животных. — Новосибирск: Наука, 1986.
3. Заварзин А.А. Очерки эволюционной гистологии крови и соединительной ткани. — М.: Медицина, 1945. — Вып. 1; 1947. — Вып. 2.
4. Заварзин А.А. Кариология и гистология // *Журн. общ. биологии*. — 1948. — Т. 9, вып. 4. — С. 275-286.
5. Кедров Б.М. О диалектико-логическом обобщении истории естествознания // *Вопр. философии*. — 1960. — № 1. — С. 61-74.
6. "Классификация" // *Философский энциклопедический словарь*. — М.: Сов. энциклопедия, 1983. — С. 61-74.
7. Клишов А.А. Классификация тканей на основе их органоспецифической детерминации // *Морфоадаптация мышц в норме и патологии*. — Саратов, 1975. — С. 149-158.
8. Клишов А.А. Гистогенез и регенерация тканей. — Л.: Медицина, 1984.
9. Михайлов В.П. К пониманию тканевой метаморфозы // 7-ой Всесоюз. съезд анатомов, гистологов и эмбриологов. — Тбилиси: Мецниереба, 1966. — С. 99.
10. Михайлов В.П. Классификация тканей и явления метаморфозы в свете принципа тканевой детерминации // *Арх. анат.* — 1972. — Т. 62, вып. 6. — С. 12-33.
11. Михайлов В.П. Гистология и генетика // *Морфология и генетика*. — М., 1973. — С. 27-29.
12. Михайлов В.П., Вахтин Ю.Б. Специфичность тканей и генетика соматических клеток // *Арх. анат.* — 1987. — Т. 93, вып. 10. — С. 22-38.
13. Саркисов Д.С. Регенерация и ее клиническое значение. — М.: Медицина, 1970.
14. Северцов А.Н. Морфологические закономерности эволюции. — М.: Изд-во АН СССР, 1939.

15. Студитский А.Н. Экспериментально-гистологические основы классификации тканей // Тр. 1-ой науч. конф. анатомов, гистологов и эмбриологов Средней Азии и Казахстана. — Алма-Ата, 1961. — С. 146-148.
16. Уоддингтон К.Х. Основные биологические концепции // На пути к теоретической биологии. I. Прологомены. — М.: Мир, 1970. — С. 11-38.
17. Хэм А., Кормак Д. Гистология. — М.: Мир, 1983. — Т. 1.
18. Хлопкин Н.Г. Морфофизиологические классификации и генетическая система тканевых структур // Успехи совр. биологии. — 1943. — Т. 16, вып. 3. — С. 267-304.
19. Хлопкин Н.Г. Филогенетическая система тканей и ее значение для медицины // Тр. 3-й сессии АМН СССР. — М., 1947. — С. 29-36.
20. Хлопкин Н.Г. Развитие многоклеточной и тканевой организации животных // Цитология. — 1959. — Т. 1. — С. 486-493.
21. "Эклектика, эклектизм, эклектицизм" // Философский энциклопедический словарь. — М.: Сов. энциклопедия, 1983. — С. 789.
22. Hertwig O. Die Zelle und die Gewebe. 2. Buch. — Jena: G. Fischer Verlag, 1898.

РЕАКТИВНЫЕ И АДАПТИВНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ СПЕРМАТОГЕННОГО ЭПИТЕЛИЯ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ОБЩЕМ ОХЛАЖДЕНИИ ОРГАНИЗМА

А.В. Молодюк

(Киров)

Актуальность изучения влияния общего охлаждения гомотермного организма на сперматогенез определяют два аспекта. Первый из них характеризуется стабильностью температурного гомеостаза, являющегося ведущим фактором нормального протекания сперматогенеза. Другой — широким использованием искусственного охлаждения в клинике и эксперименте в качестве антигипоксического протектора и как следствие — развитие бесплодия или рождение потомства, имеющего пороки развития [2, 3].

Опыты проводились на 75 белых беспородных половозрелых крысах самцах массой 250-370 г. Животных охлаждали в ванне со льдом до ректальной температуры $+20^{\circ}\text{C}$ под внутривенным гексеналовым наркозом (50 мг на 1 кг массы) с предвари-

тельной предмедикацией промедолом (0,5–1,0 мл 0,2 %). Через 10 минут после охлаждения проводили принудительное согревание животных электрофеном до температуры +34°C ректально. Самцов забивали (по 5 животных на срок) на высоте охлаждения, на высоте согревания, через 5, 11, 24 часа, на 2, 3, 4, 7, 14, 30, 45, 60 и 75 сутки постгипотермического периода. Извлеченные семенники исследовались с применением гистологических, морфологических и электронно-микроскопических методов. Под световым микроскопом подсчитывали поперечные срезы семенных канальцев 14-ти стадий цикла сперматогенного эпителия, а также количество сперматогоний, сперматоцитов, сперматид и сустентоцитов [1].

Анализ данных процентного соотношения 14-ти стадий цикла сперматогенного эпителия выявил влияние гипотермии на I, IV, V, XI и XIII стадии цикла. Подсчет клеток сперматогенного эпителия (на один поперечный срез канальца и на 100 ядер сустентоцитов) показал снижение количества всех типов половых клеток как на высоте гипотермии, так и в последующие сроки постгипотермического периода. Однако, если для сперматогоний типа А, промежуточных сперматогоний и сперматогоний типа В “пик” снижения их числа приходился на 3–7 сутки после согревания животных, то для сперматоцитов и сперматид — на более поздние сроки, составляя 50–60 % исходного уровня вплоть до 45 суток наблюдения. В дальнейшем отмечалась нормализация числа сперматогенных клеток.

На высоте охлаждения животных, а также на высоте согревания не было отмечено каких-либо структурных изменений клеток сперматогенеза на светооптическом и ультраструктурном уровнях.

В первые четверо суток после гипотермии были выявлены изменения во всех клеточных генерациях сперматогенного эпителия. Это проявлялось в дегенерации сперматогоний типа А (стадии X–XIV цикла), появлении патологических фигур мейотического деления сперматоцитов, нарушении процесса конденсации хроматина ядер сперматид.

На ультраструктурном уровне отмечалось набухание митохондрий, расширение цистерн эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи, с последующим образованием крупных везикул и полостей, дезагрегация рибосом. Развивающийся отек гялоплазмы приводил к рассредоточению клеточных органелл, мембраны которых находились в стадии распада.

На 7–14 сутки постгипотермического периода структурные изменения клеток сперматогенного эпителия носили более выраженный характер. Отмечались “специфические” изменения в зародышевых клетках, характерные для определенной генерации клеток (сперматогоний, сперматоцитов и сперматид), обусловленные особенностью их строения и функциональной значимостью в процессах сперматогенеза.

В последующие сроки наблюдений (30–45 сутки) внутриклеточная дезорганизация клеток сперматогенеза продолжалась, за исключением сперматогоний типа А, среди которых обнаруживались клетки с нормальной структурой ядра и цитоплазмы.

На 60 сутки постгипотермического периода клетки сперматогенеза по своей структурной организации не отличались от клеток контрольной группы животных.

Таким образом, однократное охлаждение самцов крыс под гексеналовым наркозом до ректальной температуры $+20^{\circ}\text{C}$ вызывает длительное, но обратимое нарушение сперматогенеза, выражающееся в изменении структуры клеток сперматогенного эпителия, уменьшении их количества, а также процентного соотношения 14-ти стадий цикла. Степень выявленных в семенниках постгипотермических изменений определяется структурной организацией и функциональной значимостью каждой из генераций клеток сперматогенного эпителия и степенью их зрелости. Наиболее лабильными в порядке возрастающей стойкости к действию холода элементами сперматогенеза являются зрелые сперматиды, сперматоциты первого и второго порядков, сперматогонии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Райцина С.С. Сперматогенез и структурные основы его регуляции. — М.: Медицина, 1985. — С. 115–175.
2. Рыжков Д.И., Молодчук А.А., Артифексов С.Б. и др. О влиянии искусственной гипотермии на репродуктивную функцию самцов крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1981. — Т. 91, № 6. — С. 718–719.
3. Сумбатов Л.А. Искусственная гипотермия. — М.: Медицина, 1985. — 88 с.

ВНУТРИЯИЧНИКОВЫЕ РЕГУЛЯТОРЫ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ СОМАТИЧЕСКИХ И ПОЛОВЫХ КЛЕТОК Фолликулов

А.И. Никитин, О.А. Воробьева

(Санкт-Петербург)

Дальнейшая детализация механизмов регуляции репродуктивной функции, в частности — процессов фолликуло- и гамето-генеза в яичниках млекопитающих имеет большое теоретическое и практическое значение в связи с разработкой методов контроля рождаемости, лечения бесплодия, выяснения причин и генеза ранней эмбриональной гибели, хромосомных болезней и т.п.

В 70-ые годы в основном сложилось представление о центральной, гонадотропной регуляции перечисленных выше процессов. При этом в развитии индивидуального фолликула была выделена относительно гормоннезависимая стадия и гормонозависимая, осуществляющаяся со стадии преполостного фолликула. Выяснено, что фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) стимулирует рост фолликулов и ароматизацию в фолликулярных клетках андрогенов, синтезируемых в клетках теки, в эстрогены, участвует в процессах лютеинизации фолликула. Лютеинизирующий гормон (ЛГ) является фактором, “запускающим” стероидогенез, стимулирующим возобновление мейоза в преовуляторных фолликулах, контролирующим процессы, ведущие к овуляции, а после неё — лютеинизации фолликула. ЛГ индуцирует переход основного синтеза в лютеинизированном фолликуле на продукцию прогестерона и обеспечивает формирование жёлтого тела.

Однако с указанных позиций не может полностью объяснено, каким образом в весьма гетерогенной популяции фолликулов (первичных многослойных, полостных, преовуляторных, на все из которых одновременно могут действовать гонадотропные стимулы) протекают упорядоченные в пространстве и времени закономерные процессы инициации и поддержки роста определённого числа первичных фолликулов, “выбора” из них опять же некоторого числа фолликулов, трансформирующихся в полостные и, наконец, формирование строго определённого количества доминантных (“предназначенных” для овуляции) фолликулов, их овуляции и лютеинизации. Описанные процессы протекают, в свою очередь, на фоне постоянно осуществляющихся атретиче-

ских изменений, которым подвергаются большая часть начавших рост фолликулов.

В последнее время стали накапливаться дополнительные факты, позволяющие по-новому осветить механизмы дифференцированного ответа фолликулярных структур яичника на тот или иной стимул. Речь идёт о роли местных, внутрияичниковых аутокриновых и паракриновых регуляторов, модулирующих действие гонадотропинов или действующих самостоятельно.

Как, например, аутокриновой регуляцией функции яичников можно указать на довольно чётко сформировавшееся представление о роли эстрогенов в регуляции роста фолликулов. Показано, что обработка фолликулярных клеток эстрогенами не изменяет их ароматазной активности, однако если такая обработка сочетается с действием ФСГ, то это приводит к резкому усилению синтеза эстрогенов [1]. Интенсивная продукция эстрогенов — признак жизнеспособности полостных фолликулов и гарантия вероятности перехода их в доминантные. Следовательно, в микросреде фолликула эстрогены оказывают локальный ауторегулирующий эффект на собственный синтез. Его результатом является стимуляция пролиферации фолликулярных клеток и ускорение роста фолликулов. Усиленно продуцируя эстрогены, доминантные фолликулы уменьшают секрецию гипофизом ФСГ и препятствуют развитию других фолликулов. Сами же они продолжают развитие в условиях уменьшенного содержания ФСГ. Реализация этого действия, как и описываемых ниже эффектов осуществляется через рецепторную систему клеток. В данном случае и эстрогены и ФСГ стимулируют образование рецепторов к ФСГ на мембране клеток гранулёзы.

В результате дальнейших исследований были получены доказательства существования других внутритканевых так называемых паракриновых систем регуляции развития фолликулов, действующих местно, в пределах структурно-функциональных единиц органа. Было показано, что соматические клетки фолликула способны к синтезу, секреции и специфической рецепции белков со стимулирующими рост свойствами так называемых ростовых факторов, специфической функцией которых является стимуляция пролиферации клеток в результате взаимодействия с рецепторами на плазматической мембране. В настоящее время наши знания об их физиологической роли фрагментарны, однако появился ряд работ, показавших их несомненную роль в репродуктивном процессе.

Эпидермальный фактор роста (ЭФР) синтезируется в клетках теки [3]. Как показали наши исследования, ЭФР обладает способностью индуцировать реинициацию мейоза в ооцитах в культуре фолликулов, а также вызывать созревание изолированных ооцитов, "заблокированных" на стадии диктиотены введением в среду дб-цАМФ. Следовательно, ЭФР может служить посредником в передаче "сигнала к созреванию". На культуре яичников показано, что спектр продуцируемых ими гормонов при воздействии ЭФР сходен с таковым при воздействии ЛГ. Установлено также, что ЭФР стимулирует пролиферацию клеток гранулёзы малых и средних фолликулов и индуцирует трансформацию примордиальных фолликулов в растущие.

Фактор роста фибробластов синтезируется в клетках гранулёзы; он усиливает пролиферацию фолликулярных клеток и рост всех классов фолликулов, стимулирует образование жёлтого тела [4].

β -трансформирующий фактор роста синтезируется в клетках теки. Он ингибирует действие ЭФР, уменьшает чувствительность фолликулов к ЛГ в преовуляторном периоде и, таким образом, может вызывать изменения в овуляторном процессе. Отмечено его стимулирующее влияние на созревание ооцитов крыс [5]. β -трансформирующий фактор усиливает влияние на яичники малых доз ФСГ, но блокирует эффект больших доз, предупреждая, таким образом, лютеинизацию части фолликулов, устраняет вызванное ингибином торможение ароматизации андрогенов в клетках гранулёзы.

α -трансформирующий фактор роста продуцируется интерстициальными клетками яичника и клетками теки. Отмечено его ингибирующее влияние на синтез эстрогенов [2].

Местом синтеза инсулиноподобного фактора роста являются клетки гранулёзы. Установлено, что этот фактор увеличивает активность ферментов стероидогенеза и, таким образом, усиливает базальный и ЛГ-стимулированный синтез андрогенов в клетках теки, а совместно с ЭФР усиливает синтез прогестерона в клетках гранулёзы.

Из других местно синтезируемых факторов следует отметить гонадотропные, обладающие гонадотропин-рилизинг-подобным действием, одним из свойств которых является торможение стимулирующего роста фолликулов действия ФСГ.

Таким образом, описанные внутрияичниковые факторы модулируют ответ фолликула на воздействие центральных регули-

рующих влияний. При этом специфический ответ фолликула на гонадотропные и другие стимулы определяется степенью дифференцировки его соматических элементов, основным содержанием которой является способность фолликула на определенном этапе его развития к тому или иному типу стероидного или белкового синтеза, что определяется сложным взаимодействием центральных и местных регулирующих влияний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Adachi E.J., Hsueh A.J. Estrogens augment the stimulation of ovarian aromatase activity by follicle-stimulating hormone in cultured granulosa cells // *J. Biol. Chem.* — 1982. — Vol. 257. — P. 6077–6083.
2. Adachi E.J., Resnick C.E. Antagonistic interaction of transforming growth factor in the regulation of granulosa cell differentiation // *Endocr.* — 1986. — Vol. 119. — P. 1879–1881.
3. Feng P., Knecht M., Catt K. Hormonal control of epidermal growth factor receptors by gonadotrophins during granulosa cell differentiation // *Endocr.* — 1987. — Vol. 120. — P. 1121–1126.
4. Neufeld J., Ferrera N., Schweigerer I., Mitchell R., Gospodarowicz D. Bovine granulosa cell produce basic fibroblast growth factor // *Endocr.* — 1987. — Vol. 121. — P. 1179–1181.
5. Skinner M.K., Keski-Oya J., Osteen K.G., Moses H.L. Ovarian thecal cells produce transforming growth factor- β which can regulate granulosa cell growth // *Endocr.* — 1987. — Vol. 121. — P. 786–792.

РЕТИНОВАЯ КИСЛОТА КАК ВОЗМОЖНЫЙ ЕСТЕСТВЕННЫЙ РЕГУЛЯТОР ИММУНОГЕНЕЗА

В.И. Ноздрин
(Москва)

По литературным данным [1], биологически активные формы витамина А, к которым относятся цис- и трансизомеры ретиновой кислоты, необходимы для нормального развития и поддержания функциональной достаточности органов системы крови и иммуногенеза. Гиповитаминоз А снижает показатели иммунитета, а у новорожденных грызунов, содержащихся на диете без витамина А, наблюдается недоразвитие лимфоидных органов. Вместе

с тем роль витамина А в механизме развития и поддержания на оптимальном уровне системы иммунитета не раскрыта.

В наших опытах, которые были проведены на лабораторных грызунах, обнаружено следующее.

Морфофункциональные проявления реактивных изменений популяции лимфоидных клеток под действием фармакологических доз производных ретиновой кислоты отражают усиление их образования и повышение функциональной активности, о чем свидетельствуют увеличение содержания в красном костном мозге и в крови больших, средних и малых форм лимфоцитов; увеличение в корковом веществе тимуса численности пролиферативного пула лимфоцитов с последующим выходом клеток за пределы органа, сопровождающееся снижением численности тетраплоидных клеток; увеличение в селезенке численности популяций функционально активных лимфоцитов, способных вступать в реакции розеткообразованная; увеличение в мезентериальном лимфатическом узле численности популяций лимфоцитов, заселяющих перикортикальную зону и лимфоидные фолликулы; увеличение численности популяций лимфоцитов с ультраструктурными признаками высокой функциональной активности в внекапсулированных лимфоидных скоплениях подкожной соединительной ткани, формирующей капсулу вокруг регрессирующей перевивной эпителиальной опухоли.

Одновременно изменяются популяции эритроидных клеток и макрофагов.

Морфофункциональные проявления реактивных изменений популяций эритроидных клеток под действием ретиновой кислоты отражают повреждение части циркулирующих в кровотоке эритроцитов, удаление поврежденных клеток и усиление эритропоэза и включают в себя уменьшение в крови содержания эритроцитов, снижение их осмотической устойчивости, концентрации гемоглобина, накопление в крови эритроцитов с измененными тинкториальными свойствами их клеточной поверхности; увеличение содержания в красной пульпе селезенки поврежденных фагоцитируемых макрофагами эритроцитов; увеличение численности пролиферирующей части эритроидно-клеточной популяции красного костного мозга, изменение в соотношении дифференцирующихся клеток, увеличение в крови численности ретикулоцитов.

Морфофункциональные проявления реактивных изменений популяции моноцитов под действием фармакологических доз

производных ретиноевой кислоты являются устойчивыми, сходными, отражают усиление их образования, повышение функциональной активности и включают в себя увеличение численности пролиферирующей части популяции моноцитов в красном костном мозге; повышение способности моноцитов трансформироваться в макрофаги; увеличение содержания макрофагов с высокой фагоцитарной активностью.

Изменение показателей морфофункционального состояния популяций эритроцитов и лимфоцитов в крови у лиц, длительно контактирующих с биологически активными формами витамина А, являются односторонними с таковыми в эксперименте на животных и проявляются повреждением эритроцитов, увеличением содержания в крови ретикулоцитов, средних и больших форм лимфоцитов, усилением внутрикожной реакции на туберкулин.

Обобщая эти данные, мы выдвинули гипотезу о путях его иммуностимулирующего действия. Основными звеньями в цепи механизма адьювантного действия фармакологических доз производных ретиноевой кислоты могут быть: а) повреждение избытком веществ форменных элементов крови и других клеток, но прежде всего эритроцитов как наиболее многочисленных из них; б) удаление из кровотока клетками органов системы крови поврежденных эритроцитов; в) стимуляция гемопоэза; г) аутоантитогенное усиление реакции гуморального и клеточного иммунитета.

В литературе возможный механизм иммуностимулирующего действия ретиноевой кислоты не обсуждался. Однако некоторые факты могут коррелировать с этой моделью. Показано, что удаление из кровотока поврежденных эритроцитов осуществляют лимфоциты и макрофаги [3]. Холодовое повреждение эритроцитов может лежать в основе усиления и ослабления иммунной защиты при закаливании и холодовой болезни [2]; путем аутопереливания поврежденных нагреванием эритроцитов можно стимулировать иммунную защиту [4].

ЛИТЕРАТУРА

1. Лидак М.Ю., Пледитый К.Д. Витамин А и синтетические ретиноиды в иммунологии и онкологии. — Рига: Зинатис, 1984. — 127 с.

2. Марачев А.Г., Корнев А.В. Морфологические изменения эритроцитов при воздействии холода на организм // Арх. пат. — 1983. — № 9. — С. 11-18.
3. Пухова Я.И. Аутоиммунный клеточный механизм биологического разрушения эритроцитов. — Новосибирск: Наука, 1979. — 173 с.
4. Труфакин В.А. Иммунологические аспекты аутоиммунных процессов. — Новосибирск: Наука, 1983. — 178 с.

ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА ЛИМФОИДНЫХ СКОПЛЕНИЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЛОКАЛИЗАЦИИ В ТОЛЩЕ СТЕНКИ ПИЩЕВОДА

Л.А. Плявинь

(Рига)

Антигенным частицам просвета пищеварительного тракта в качестве барьера противостоит лимфоидная ткань, локализованная в толще стенки всех отделов пищеварительного тракта [4, 2, 3]. Именно лимфоидной ткани принадлежит ответственная роль поддерживать постоянный генетический состав внутренней среды организма [1, 5]. Лимфоидная ткань в толще стенки пищевода формирует скопления; часть их расположена в толще собственной пластинки слизистой оболочки, другие же локализованы возле секреторных отделов пищеводных желез и их выводных протоков.

Наш исследуемый материал распределен согласно возрастной классификации И.А. Аршавского и В.В. Бунака (1965). В обработке материала от 75 трупов использованы гистологические окраски гематоксилин-эозином и азуром-2эозином.

Согласно полученным результатам, лимфоидные скопления в пищеводе составляют следующие клетки: малые и средние лимфоциты, единичные большие лимфоциты и единичные плазматические клетки, макрофаги и ретикулярные клетки.

В лимфоидных скоплениях, локализованных в толще стенки пищевода, вне пищеводных желез наиболее многочисленными клетками являются малые лимфоциты. У новорожденных их 66,1 %. Средние лимфоциты в этом возрасте составляют 19,1 %. Большие лимфоциты и плазматические клетки у новорожденных в лимфоидных скоплениях единичные. В лимфоидных скопле-

ниях у новорожденных ретикулярные клетки составляют 10,9 %. Макрофаги — единичные. К подростковому возрасту в лимфоидных скоплениях большим становится содержание средних лимфоцитов — до 30,3 %; большие лимфоциты в этом возрасте составляют 3,9 %. Развивающиеся с возрастом инволютивные изменения отражаются на клеточном составе лимфоидных скоплений: к старческому возрасту в скоплениях вдвое меньшим становится содержание средних лимфоцитов, процентное содержание плазматических клеток уменьшается в пять раз, а большие лимфоциты в скоплениях отсутствуют.

В лимфоидных скоплениях возле секреторных отделов наиболее многочисленными клетками оказываются средние лимфоциты, составляющие у новорожденных 46,4 %. К 8–12 годам содержание средних лимфоцитов в скоплениях — 55,2 %, в дальнейшем оно удерживается на этом же уровне — 57,1 % у старых людей. Малых лимфоцитов в скоплениях возле секреторных отделов желез меньше, чем в скоплениях вне пищеводных желез. У новорожденных их 27,2 %, у детей 8–12 лет — 27,0 %, в старческом возрасте — 27,5 %. Плазматические клетки, ответственные за выработку антител, являются постоянным компонентом лимфоидных скоплений. У новорожденных процентное содержание плазматических клеток составляет 3,0 %, в возрасте 8–12 лет — от 1 до 4 плазматических клеток на каждые 100 клеток, а в старческом возрасте — 2 %. Содержание макрофагов в скоплениях подвержено возрастным изменениям. У новорожденных их 16,0 %, у детей 8–12 лет количество макрофагов снижается на четверть (12,0 %), у старых людей макрофаги составляют 10,6 %.

В лимфоидных скоплениях возле выводных протоков пищеводных желез наиболее многочисленными оказываются средние лимфоциты. Их содержание у новорожденных — 52,7 %, в последующие возрастные периоды оно мало изменяется — 56,0 % в возрасте 8–12 лет и 58,5 % в возрасте 60 лет. Малых лимфоцитов в лимфоидных скоплениях почти вдвое меньше, чем средних лимфоцитов. У детей грудного возраста их содержание 28,7 %. В возрасте 8–12 лет малые лимфоциты составляют 33,4 % и в дальнейшем онтогенезе удерживаются на том же уровне. Начиная с 4-х лет большие лимфоциты, встречающиеся в лимфоидных скоплениях, — единичные. Плазматические клетки единичны в лимфоидных скоплениях. Стабильный уровень плазматических клеток не свидетельствует о высокой интенсивности иммунных

процессов. В лимфоидных скоплениях третьими по многочисленности являются макрофаги. У детей грудного возраста они составляют 12,3 %, а к старческому возрасту снижаются почти в три раза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Петров Р.В. Иммунология и иммуногенетика. — М.: Медицина, 1974.
2. Сакимбаев Э.Р. Возрастная анатомия групповых лимфатических узлов червеобразного отростка человека // Арх. анат. — 1984. — Т. 87, вып. 8. — С. 60-64.
3. Салин М.Р. Иммунные структуры пищеварительного тракта. — М.: Медицина, 1986.
4. Хатамов Э.А. Распределение лимфатических узлов в стенке тонкой и толстой кишки человека в постнатальном онтогенезе // Тр. Крымск. мед. ин-та. — Симферополь, 1983. — Т. 101. — С. 265-266.
5. Spencer J., Feresz Fina, Isacson P.G. Gut associated lymphoid tissue // Gut. — 1985. — Vol. 26, N. 7. — P. 672-679.

АУТОЛИТИЧЕСКИЕ ОЧАГИ В КЛЕТКАХ PC12 ПРИ NGF ИНДУЦИРОВАННОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ И В ЭМБРИОНАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ В ПЕРИОД ГАСТРУЛЯЦИИ

Р. Райд, Ю. Кярнер

(Тарту)

В процессе обособления зародышевых листков у куриных зародышей наблюдается очаги парциального некроза клеточной цитоплазмы. Чтобы выяснить, является ли парциальный некроз цитоплазмы необходимой предпосылкой дифференцировки, или по крайней мере сопровождает этот процесс, мы изучали более упрощенную модельную систему, а именно клетки феохромоцитомы PC12. В условиях тканевой культуры под влиянием фактора роста нервов (NGF) эти клетки выпячивают длинные нейроноподобные отростки с характерными конусами роста [1]. Поскольку эти отростки образуются *de novo*, то такие культуры моделируют процессы дифференцировки, происходящие *in vivo*,

лучше, чем первичные культуры симпатических и чувствительных ганглиев. По существу в них наблюдаются процессы регенерации.

Анализ показывает, что аутолитические процессы, происходящие в клетках PC12 во время начальных этапов NGF индуцированной цитодифференцировки, аналогичны с процессами в эмбриональных клетках в период гаструляции. В обоих случаях реорганизация цитоплазмы начинается интенсивным клазматозом.

1. Примерно от 1 до 4 часов опыта после добавления в питательную среду NGF из клеток PC12 интенсивно отшнурываются многочисленные пузырьковидные псевдоподии (диаметром 0,8–1,9 мкм), которые содержат рибосомы, в основном, в моносомной форме. Псевдоподии соединены с клеткой узкой ножкой, содержащей элементы цитоскелета, в частности, микрофиламенты. Некоторые из них имеют явные признаки деградации. Отдельные пузырьковидные псевдоподии наблюдаются на свободной поверхности клеток контрольной культуры в течение всего опыта. Аналогичные пузырьковидные структуры выпячиваются из клеток куриного зародыша после инвагинации через гензеновский узелок во время гаструляции. Они тоже содержат рибосомы в виде моносом и соединены с клеткой узкой ножкой. Цитохимическая реакция показывает, что эти межклеточные псевдоподии имеют активность на кислую фосфатазу. Количество реакционного продукта варьирует в довольно больших пределах. Некоторые псевдоподии заполнены реакционным продуктом, а другие содержат только отдельные зернышки.

2. Из клеток PC12 отторгаются относительно большие (диаметром 3–6 мкм) сферические структуры — микроцитосферы (МЦС). Они возникают в виде большого шара, который в ходе процесса отшнурывается от остальной цитоплазмы и может остаться прикрепленным к клеточной поверхности или располагаться отдельно на субстрате. После отщипывания МЦС постепенно подвергаются деградации. Количество МЦС в контрольной культуре относительно небольшое, их тонкое строение варьирует в больших пределах. Примерно после суточного опыта число МЦС увеличивается и изменяется их структура. Содержание разных МЦС уравнивается, теперь они все содержат в основном многочисленные катехоламиновые гранулы. Во время инвагинации клетки гензеновского узелка тоже отторгают относительно большие сферические структуры (диаметром больше 2 мкм), которые

содержат в основном желточные гранулы.

Наблюдаемые аутолитические процессы не являются началом погибания клеток. В начальном периоде дифференцировки (до 3 суток опыта) клеток PC12 в культурах практически отсутствуют некротические клетки. А в зародыше курицы на пятой стадии развития (непосредственно после гастрюляции) количество некротических клеток не превышает в отдельных зародышевых листках 1,5 %. такой же процент погибающих клеток наблюдается в регрессирующем гензеновском узелке.

Полученные данные дают возможность предположить, что перед приобретением фенотипа новой дифференцировки клетки освобождаются от старого аппарата белкового синтеза, от характерных продуктов предшествующей дифференцировки (желточные или катехоламиновые гранулы) и от обширных регионов клеточной поверхности.

В заключение подчеркнем, что постоянное отторжение клеточной поверхности свойственно многим опухолевым клеткам [2]. В этом отношении в процессе гастрюляции инвагилирующие клетки зародышей курицы сходны с опухолевыми клетками.

ЛИТЕРАТУРА

1. Greene L.A., Tischler A.S. Establishment of a noradrenergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells which respond to nerve growth factor // Proc. Natl. Acad. Sci. USA — 1976. — Vol. 73. — P. 2424-4228.
2. Лиенинс А. Отделение поверхности мембраны опухолевой клетки // Методы генетики соматических клеток. — М.: Мир., 1985. — С. 256-273.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЕ ШИРОЧАЙШЕЙ МЫШЦЫ СПИНЫ ВСЛЕДСТВИЕ ЭЛЕКТРОНЕЙРОСТИМУЛЯЦИОННОЙ ТРЕНИРОВКИ

Л. Ралене, К. Шальчюс, А. Валанчюте

(Каунас)

Главным препятствием в использовании скелетной мышцы для замены поврежденного миокарда или в качестве дополнительного механического средства для сердца является ее быстро

наступающая утомляемость. Установлено, что скелетная мышца подвергается значительным изменениям морфологических, физиологических и метаболических свойств в ответ на длительную тренировку, в особенности при электростимуляции через ее нерв (электронейростимуляция) [1, 3, 4]. Задача данной работы — на экспериментальном материале изучить морфофункциональные изменения широчайшей мышцы спины (ШМС) (*m. latissimus dorsi*) собаки при электронейростимуляционной тренировке как потенциального заместителя сердечной функции с целью обоснования использования ее в кардиомиопластике. Известно, что эта мышца пользуется рядом потенциальных преимуществ по сравнению с другими скелетными мышцами [2].

Опыты проводили на 12 беспородных собаках. В области сухожильной ножки левой ШМС у места входа торакодорзального нерва (*n. thoracodorsalis*) имплантировали оригинальный электрод с графитной контактной частью. Для генерации импульсов применяли программируемый электрокардиостимулятор ЭКС 500 Ли. Электронейростимуляционная тренировка ШМС проводилась через нерв в течение 3 месяцев моноимпульсами, постепенно, через каждые две недели, увеличивая частоту сокращений от 30 до 80 сокр./мин *in situ* или после отсечения этой мышцы у места ее начала. В конце эксперимента забиралась биоптаты из проксимальной, средней и дистальной частей тренированной мышцы и из места имплантации электрода. Для контроля брались соответствующие участки ШМС противоположной стороны. Для определения типов мышечных волокон применяли гистохимическую реакцию на миофибрилярную аденозинтрифосфатазу (АТФ-аза). Для выявления мионейтральных пластинок (МНП) использовали метод гистохимической реакции на ацетилхолинэстеразу (АХЭ). Кроме того, исследовали парафиновые срезы, окрашенные гематоксилином и эозином и применяли метод импрегнации серебром.

Морфофункциональные исследования ШМС, стимулированной *in situ*, не выявили структурных повреждений. Миоциты продолжали сохранять нормальную структуру, поперечную исчерченность, воспалительные процессы, и дистрофические изменения отсутствовали. Обнаружены жизнеспособные нервные волокна. Гистохимическая реакция на АТФ-азу показала, что происходит трансформация мышечных волокон быстрого сокращения на медленный тип. Число миоцитов I типа (красные волокна) увеличивается на 2,7 раза. Существенных различий гистохими-

ческой реакции на АТФ-азу у биоптатов, взятых из разных мест мышцы, не обнаружено. Гистохимическая реакция на АХЭ-азу показала, что активность этого фермента увеличивалась по сравнению с контрольной мышцей. Число зон вокруг МНП с высокой АХЭ активностью увеличивалось в 6,7 раза. Все (100 %) МНП стимулированной мышцы по своим краям имели высокую АХЭ активность (в контроле 84,4). Число МНП, в центральных частях которых обнаружена такая активность, увеличивалось на 4,1 раза.

По морфофункциональным исследованиям ШМС, стимулированной после отсечения ее начала, вышеупомянутые изменения отсутствовали. В мышце, которая была стимулирована после ее отсечения; обнаружена жировая дистрофия по всему мышечному диску. Гистохимическая реакция на АТФ-азу показала незначительную очаговую трансформацию. АХЭ активность такой мышцы была сходна с активностью в контроле.

Полученные данные позволяют заключить, что электронной-ростимуляционная тренировка ШМС при постепенном увеличении числа сокращений не приводит к дистрофическим изменениям в интактной мышце, а вызывает ряд адаптивных реакций, в результате которых больше миоцитов содержит набор ферментов, обеспечивающих метаболизм в аэробных условиях, увеличивается скорость расщепления ацетилхолина в МНП. Эти адаптивные изменения дают основание для изменений в физиологических характеристиках, что делает мышцу более устойчивой к утомлению и открывает возможности использования ее в кардио-пластике как потенциального заместителя механической функции сердца.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chachgues J.C., Grandjean P., Vasseur B., et al. Electrophysiological conditioning of *latissimus dorsi* muscle flap for myocardial assistance // Progress in artificial organs — 1985 / Ed. Y. Nose, C. Kjellstrand, P. Ivanovich. — Cleveland, ISAO Press, 1986. — P. 409-412.
2. Mannion J.D., Bitto T., Hammond R.L., et al. Histochemical and fatigue characteristics of conditioned *latissimus dorsi* muscle // Circul. Res. — 1986. — Vol. 58. — P. 298-304/
3. Mannion J.D., Stephenson L.W. Potential uses of skeletal muscle for myocardial assistance // Surg. Clin. North Amer. — 1985. — Vol. 65. — P. 679-687.

4. Mussini I., Calliari I., Marchioro L., et al. Morphological changes of muscle fiber and neuromuscular junction following electrostimulation // Sarcomeric and nonsarcomeric muscles / Ed. U. Carraro. Padova, Italy, 1988. — P. 391–401.

МИКРОТОПОГРАФИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ЛИМФАТИЧЕСКИХ КАПИЛЛЯРОВ С ЖЕЛЕЗИСТЫМ ЭПИТЕЛИЕМ

В.С. Ревазов, В.А. Кудряшова, И.К. Вороной
(Москва)

Звенья лимфатического и кровеносного русел органов находятся в тесных анатомо-топографических и микрофотографических взаимоотношениях, что составляет морфологическую основу протекающих в них обменных процессов. В то же время, исходя из специфики строения стенок лимфатических капилляров, им отводится важная роль во всасывании крупномолекулярных соединений в тканях и их транспортировании. В исследованиях Д.А. Жданова [1], М.Р. Сапина [2] раскрыты морфологические основы всасывания в корни лимфатического русла — лимфатические капилляры гормонов, вырабатываемых щитовидной железой и надпочечниками. В свете данных о диффузной эндокринной системе (ДЭС), к которой относятся гормон-продуцирующие клетки эпителиальных тканей пищеварительной, дыхательной, мочевыделительной систем и кожи [4, 3] нами были выявлены и изучены микрофотографические взаимоотношения лимфатических капилляров с железистым эпителием поднижнечелюстной железы, желудка и различных частей тонкой кишки методом интерстициальных инъекций массы Герота, с последующим изготовлением просветленных и гистологических препаратов (окраска по Ван-Гизон, гематоксилином-эозинном). Обнаружено, что в поднижнечелюстной железе лимфатические капилляры занимают тонкие соединительно-тканые прослойки между первичными дольками и тесно прилегают к клеткам железистого эпителия. На всем протяжении слизистой оболочки желудка лимфатические и кровеносные капилляры имеют сложные микрофотографические взаимоотношения; местами формирующиеся ими сети пронизывают друг друга; лимфатические капилляры

сопровождают тонкие артерии, притоки вен, формируя с ними общие пучки. В собственной пластинке слизистой оболочки лимфатические капилляры, представленные межжелудочными лимфатическими синусами и плоскостной сетью лимфатических капилляров, непосредственно соприкасаются с желудочными железами. Каждая желудочная железа со всех сторон, в виде муфты, охвачена лимфатическими капиллярами. Плотность лимфатических капилляров на единицу площади нарастает соответственно увеличению количества желез в различных анатомо-функциональных частях слизистой оболочки: в пределах малой кривизны и привратниковой части органа на 1 мм² насчитывается до 100 межжелудочных лимфатических синусов; в области дна и тела — до 40. В 12-перстной кишке лимфатические капилляры слизистой оболочки также со всех сторон прилегают к кишечным криптам. Глубже капилляры пронизывают мышечную пластинку слизистой оболочки и продолжают в широкие лимфатические капилляры подслизистой основы, где сосредоточены дуоденальные железы. Последние также находятся в тесных микрофотографических взаимоотношениях с лимфатическими капиллярами, которые со всех сторон непосредственно охватывают каждую железу; отдельные лимфатические капилляры проникают по междольковым соединительно-тканым перегородкам в толщу железы. В слизистой оболочке тощей и подвздошной кишки лимфатические капилляры и кишечные железы имеют такие же тесные микрофотографические взаимоотношения.

Проследивая возрастные особенности микрофотографии желудочных, дуоденальных и кишечных желез, нами обнаружено, что сближение лимфатических капилляров с железами желудочно-кишечного тракта происходит вторично: первоначально закладка желудочных, дуоденальных и кишечных желез происходит со стороны поверхности слизистой оболочки путем выпячивания эпителия в подлежащую мезенхиму, в то время как лимфатические капилляры раньше (на 4 месяце утробного развития) появляются вдали от них — в подслизистой основе. К концу утробной жизни, после рождения и в первые годы жизни лимфатические капилляры прорастают из подслизистой основы (через мышечную пластинку в слизистой оболочке) в слизистую оболочку, где приобретают тесные микрофотографические взаимоотношения с расположенными в ее толще железами.

Поскольку микрофотография лимфатических капилляров в глубоких слоях стенок желудочно-кишечного тракта напоминает

взаимоотношения лимфатических капилляров с клетками эндокринных желез, можно предположить, что корни лимфатической системы — лимфатические капилляры участвуют во всасывании гормонов, вырабатываемых клетками диффузной эндокринной системы, сосредоточенных в железах желудочно-кишечного тракта.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жданов Д.А. Новые данные о функциональной анатомии лимфатических капилляров // Успехи соврем. биол. — 1966. — Т. 61, вып. 3. — С. 443–460.
2. Санин М.Р. Сосуды надпочечных желез. — М.: Медицина, 1974.
3. Яглов В.В., Ломоносова Т.А. Диффузная эндокринная система: Итоги и перспективы исследования // Успехи соврем. биол. — 1985. — Т. 99, вып. 2. — С. 264–276.
4. Аруни Л.И. Эндокринные клетки желудочно-кишечного тракта в норме и при патологии // Клин. мед. — 1975. — С. 18–25.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ЛИМФОЦИТОВ КРОВИ ДЕТЕЙ В НОРМЕ И ПРИ ГЕМОЛИТИКО-УРЕМИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ (ГУС)

О.П. Рябчиков, Л.Т. Теблочева, Г.Н. Суркова
(Москва)

Гемолитико-уремический синдром (ГУС) был описан Гассер с соавт. в 1955 г. Данное тяжелое заболевание характеризуется триадой: острая почечная недостаточность, гемолитическая анемия, тромбоцитопения. ГУС встречается у различных групп населения. Прогноз его без адекватного лечения неблагоприятный. Однако вопросы патогенеза данного синдрома остаются мало изученными и являются предметом обсуждения среди экспериментаторов и клиницистов. Учитывая частое возникновение данного заболевания на фоне вирусной и бактериальной инфекции, связь его с прививками, иммунодефицитными состояниями, некоторые авторы указывают на иммунологическую природу ГУСа. Однако многие иммунологические показатели при ГУС до

сих пор никем не представлены, а это имеет отношение к уточнению патогенеза данного синдрома. Поэтому целью представленной работы является описание количественной характеристики Т- и В-клеточных звеньев иммунной системы у детей раннего возраста, находящихся на различных клинических стадиях ГУС.

Обследовано 20 детей в возрасте от 6 до 24 месяцев больных ГУС. Состояние больных было тяжелым, с выраженными проявлениями токсикоза и неврологическими нарушениями вплоть

до комы и судорог. Из крови больных получали суспензию лимфоцитов с помощью фикол-верографического градиента плотности. Среди Т-лимфоцитов, ответственных за клеточный и гуморальный иммунитет, определяли общую популяцию Т-лимфоцитов (Е-РОК) и отдельные ее субпопуляции — “активные” Т-лимфоциты (А-РОК), Т-клетки, образующие розетки с аутологичными (собственными) эритроцитами (ауто-РОК). Среди В-лимфоцитов, ответственных за гуморальный иммунитет, определяли клетки, имеющие на своей поверхности рецепторы к третьему компоненту комплемента (ЕАС-РОК), и клетки, имеющие поверхностные рецепторы иммуноглобулинов различных классов (Ig +-клетки), общеизвестными в иммунологии методами. Количество О-лимфоцитов, не имеющих на своей поверхности рецепторов Т и В-лимфоцитов, вычисляли по разнице между общим числом лимфоцитов и суммой Т- и В-клеток.

Установлено, что в самой тяжелой стадии заболевания — олигоанурии — в крови больного резко снижен общий процент лимфоцитов — 20,8 % против 51 в норме. Особенно страдает В-клеточное звено системы иммунитета: количество Ig +-клеток уменьшается до 2 % против 8 % в норме, число клеток с C₃ рецептором снижено до 4,6 % вместо 12 % в норме. Среди Т-лимфоцитов сильно уменьшается количество “активных” клеток — до 7 % вместо 21,3 % в норме. Делается вывод о том, что в крови детей при ГУС имеется дефект некоторых субпопуляций лимфоцитов, особенно это касается “активных” Т-лимфоцитов и В-лимфоцитов всех исследованных групп. Констатировано также снижение абсолютного количества О-клеток. К моменту клинического улучшения клеточные показатели иммунного статуса у больных не приходят к норме. Полученные результаты подтверждают целесообразность дальнейших исследований в этом направлении для оценки роли иммунологического звена в патогенезе ГУС и возможных поисков терапевтической коррекции.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОК ЗАРОДЫШЕЙ ПОЛИХЕТЫ *NEREIS VIRENS* В ОТВЕТ НА ТЕПЛОВОЙ ШОК

П.А. Сидорова, Ж.Е. Федорова, А.К. Дондуа
(Санкт-Петербург)

Исследование влияния повышенных температур на развитие полихеты *Nereis virens* показало, что кратковременное действие температур 34–36° вызывает быструю гибель зародышей. Опыты с температурами в диапазоне 28–32° обнаружили, что устойчивость зародышей возрастает начиная со стадии начала вращения и значительно повышается на стадии трохофоры. При кратковременном действии этих температур на стадии дробления развитие останавливается на стадии ранней трохофоры; тепловой шок на стадии гастролы блокирует развитие на стадиях трохофоры — метатрохофоры, и лишь изредка формируются аномальные нектохеты. Вместе с тем при аналогичном воздействии на стадии начала вращения температура 28° практически не оказывает вредного влияния. Наконец, трохофоры не чувствительны и к 30° импульсу а при 32° развитие достигает стадии поздних нектохет, хотя и имеющих некоторые нарушения пигментации глазков.

Ультраструктурные изменения клеток в условиях гипертермии изучали на стадиях раннего дробления (8 час развития, 2–4 бластомера), гастролы (24 час) и начала вращения (36 час) после теплового шока (ТШ) в течение 30 мин при температуре 30°. Зародышей на стадии начала вращения фиксировали сразу после воздействия, а также спустя 1,3 и 6 час. Зародышей на стадиях раннего дробления и гастролы фиксировали сразу после ТШ и спустя 1, 2 час, 30 час и 13 час соответственно так, чтобы конечной стадией исследования влияния ТШ на морфологию развития оказалась стадия начала вращения.

Стадия протрохофоры (начала вращения зародыша в яичных оболочках, 36–46 час после осеменения) характеризуется рядом особенностей. Замедление клеточной репродукции, сопряженное с резким увеличением интерфазы [1], коррелирует с рядом существенных преобразований морфологии клеток [2, 3]. Исчезает карномерная структура ядер, сегрегированная форма ядрышек, характерная для стадий позднего дробления и гастролы. В ядрах клеток протрохофор имеется до 5 компактных фибриллярно-гранулярных и вакуолизированных ядрышек.

Внутри интерстиций находятся прерибосомные гранулы (25 нм). Отчетливо выявляется околядрышковый хроматин. В нуклеоплазме и в связи с ядерной оболочкой появляются глыбки хроматина, отсутствовавшие на стадии дробления. Ядра богаты РНК-содержащими гранулами (25 нм, 40–45 нм). В цитоплазме появляются единичные каналцы шероховатой эндоплазматической сети.

Анализ ультраструктурных изменений показал, что ТШ на стадии начала вращения вызывает у зародышей *Nereis virens* существенные нарушения ядерных и цитоплазматических структур. После гипертермии в эмбриональных клетках *N. virens* наблюдается увеличение конденсации хроматина, появление в нуклеоплазме большого количества гранул диаметром 40–47 нм. Наиболее значительные изменения затрагивают структуру ядрышек. Показана вакуолизация, сегрегация и дезинтеграция ядрышек, отмечено появление осмиофильных ядерных телец. В ядрышковых вакуолях и вокруг ядрышек концентрируются многочисленные прерибосомные частицы, свидетельствующие о нарушении процессинга и транспорта рРНК. Восстановление структуры ядрышек наблюдается через 6 часов после ТШ. Тепловое воздействие вызывает в клетках зародышей *N. virens* нарушение нормальной структуры митохондрий и изменение их локализации в клетке, проявляющееся в концентрации митохондрий в околядерной области. Аналогичное перемещение митохондрий с периферии клетки в область ядра, описанное и для других объектов, связано с нарушением цитоскелета и обусловлено агрегацией вокруг ядра виментин-содержащих промежуточных филаментов.

Клетки зародышей, обработанных на стадиях дробления и гастролы, в период формирования протрохофоры имеют повреждения, вызванные действием ТШ. Причем эти изменения тем существенней, чем раньше производилась гипертермия. Изменения клеток свидетельствуют о нарушении синтеза, процессинга и транспорта рРНК (сегрегация ядрышек, скопление прерибосомных частиц в сильно вакуолизованных и дезинтегрированных ядрышках, наличие осмиофильных ядерных телец), нарушении структуры и локализации митохондрий. Анализ полученных данных говорит о неспособности ранних зародышей восстанавливать структуру клеточных элементов в ответ на стрессовое воздействие, что, по-видимому, связано с отсутствием синтеза белков теплового шока, появление которых обычно коррелирует с повышением термоустойчивости.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дондуа А.К., Федорова Ж.Е. Клеточные циклы на разных этапах эмбрионального и личиночного развития *Nereis virens* Sars // Онтогенез. — 1981. — Т. 12, № 6. — С. 547-554.
2. Сидорова П.А. Ядрышки и ядрышкоподобные тела в раннем эмбриональном развитии полихеты *Nereis virens* // Цитология. — 1984. — Т. 26, № 7. — С. 773-777.
3. Сидорова П.А. Формирование ядрышка и изменение его морфологии на разных стадиях эмбрионального и личиночного развития полихеты *Nereis virens* // Цитология. — 1986. — Т. 28, № 11. — С. 1196-1201.

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО ПЕПТИДА НА КЛЕТКИ ЛИМФОИДНОГО РЯДА, ВЫЯВЛЯЕМЫЕ В ФУНКЦИОНАЛЬНО РАЗЛИЧНЫХ ЗОНАХ РЕГИОНАЛЬНОГО ЛИМФАТИЧЕСКОГО УЗЛА

Т.С. Смирнова
(Санкт-Петербург)

Изучение влияния биологически активных веществ на динамику регенерированных процессов в настоящее время все более привлекает внимание. Постоянно растет количество веществ, принимаемых для управления заживления ран [3, 4]. Целью данного исследования было выявление естественного метаболита, выделяющегося при распаде коллагена — дипептида лизил-пролин, на клетки разных зон регионарного лимфатического узла, так как известно, что иммунокомпетентные клетки принимают самое активное участие в процессах регенерации [1, 2, 5].

Материал и методика

Опыт поставлен на 84 крысах линии Вистар. Под кожу спины вшивали пластмассовое кольцо диаметром 1,5 см. В область раны во время операции вводили 20 мкг лизил-пролина и далее — каждые 2 суток по 5 мкг. Контрольным животным вводили изотонический раствор. Материал брали ежедневно в течение 11 суток. Срезы подмышечного лимфатического узла толщиной 5-6 мкм окрашивали метиловым-зеленым и пиронином по Унна.

Определяли плотность популяции малых и средних лимфоцитов, иммунобластов, незрелых и зрелых плазмоцитов, митотически делящихся и тучных клеток в маргинальной зоне и мозговом веществе лимфатического узла. Сравнение полученных данных производили с применением U-критерия Вилкоксона — Манна — Уитни при $P = 0,05$.

Результаты исследования

В маргинальной зоне лимфатического узла плотность малых лимфоцитов у крыс, которым вводили лизил-пролин на протяжении всех сроков наблюдения, была значительно ниже, чем у контрольных (максимальное различие выявлено на 5-е сутки). В отношении других видов иммунокомпетентных клеток статистически значимых различий плотности их популяции не выявлено.

В мозговом веществе начиная с 3-х суток плотность популяции малых лимфоцитов у подопытных животных была выше, чем у контрольных; наибольшая степень отличия имела место тоже на 5-е сутки. Плотность популяции незрелых плазмоцитов у крыс разных серий различалась уже на 2-е сутки, причем у животных, которым вводили лизил-пролин, она была ниже. Наиболее значительное отличие отмечено опять же на 5-е сутки. Плотность популяции зрелых плазмоцитов у подопытных животных была также ниже, чем у контрольных, но различие отмечено позже (на 4–5–6-е сутки). По отношению к другим иммунокомпетентным клеткам статистически значимых отличий их плотности популяции у двух серий животных не обнаружено.

Таким образом, лизил-пролин оказывает не только локальные влияния в области введения, но и вызывает изменения плотности популяции иммунокомпетентных клеток в регионарном лимфатическом узле. В функционально различных зонах лимфатического узла реакции иммунокомпетентных клеток не одинаковы. Их характер позволяет полагать, что лизил-пролин участвует в регуляции как поступления клеток в лимфатический узел, так и темпов их дифференцировки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабаева А.Г. Регенерация и система иммуногенеза. — М.: Медицина, 1985.

2. Долгушин И.И. О значении иммунных механизмов в регуляции репаративных процессов // Пат. физиол. и экспер. терапия. — 1978. — № 6. — С. 30-32.
3. Семенова Н.А., Мамедов Л.А., Шаниро А.М. и др. Способ предварительного усиления репаративных свойств кожи на месте предполагаемого операционного разреза. Деп. в ВИНТИ 31.01.89 № 681-В-89.
4. Сневак С.Е., Хулун Г.Я., Шехтер А.Б. и др. Коллаген-деларгининовый комплекс: Влияние на заживление ран // Здоровоохр. Белоруссии. — 1989. — № 2. — С. 36-39.
5. Чередыев А.Н., Ковальчук Л.В., Горлика Н.К. и др. Участие иммунной системы в процессах дифференцировки нелимфоидных тканей: Способность лимфоцитов усиливать дифференцировку трансформированных фибробластов *in vitro* // Проблемы и перспективы современной иммунологии. — Новосибирск: Наука, 1988. — С. 197-209.

ОСОБЕННОСТИ ЦИТОСКЕЛЕТА ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

И.Б. Токин, Г.Ф. Филимонова
(Санкт-Петербург)

К цитоскелету клетки относят совокупность структур, ответственных за ее пространственную ориентацию и движение. В конечном счете цитоскелетом определяется форма клеток, их способности к передвижению и прикреплению к другим клеткам, либо субстрату, а также транспорт различных частиц в клетку и из нее. К настоящему времени описано три класса цитоскелетных образований. Это скелетные фибриллярные структуры (промежуточные филаменты), микрофибриллярный аппарат (основные и вспомогательные белки-микрофиламенты), система микротрубочек. Недавно выделен еще один класс подобных образований — микротрабекулы. Последние представляют собой множество мелких гетерогенных структур, соединяющих элементы цитоскелета как друг с другом, так и с различными органеллами. Это хорошо объясняет существующие между тремя основными системами взаимодействия.

К настоящему времени накоплено множество данных о расположении цитоскелетных белков в клетках разного типа [2].

Менее изучены в этом плане клетки тканей беспозвоночных. В данной работе рассмотрено строение цитоскелета в клетках кишечного эпителия у различных представителей иглокожих.

Нами исследованы цитоскелетные структуры эпителиальных клеток различных отделов пищеварительного тракта морских ежей, морских звезд и голотурий. Объекты фиксировали в 3 % глютаральдегиде с последующей дофиксацией в четырехокиси осмия и после дегидратации заключали в эпон-812. Ультратонкие срезы просматривали в электронном микроскопе EM-100B при ускоряющем напряжении 80 кв.

Ранее нами установлено [1], что в кишечном эпителии иглокожих интегрированы различные типы клеток: слизистые, зимогенные, всасывающие и пищеварительные. Характерной особенностью всех типов клеток, входящих в состав эпителиального пласта, является их необычная форма (клетки узкие и высокие), резко выраженная полярность и мультифункциональность. Так, высота эпителия в пищеварительном тракте разных иглокожих колеблется от 100 до 350 мкм, а диаметр варьирует в одной и той же клетке от 0,1 до 4–5 мкм.

Своеобразие эпителиальных клеток отражается и на особенностях их цитоскелета. Во всех типах клеток выявлены развитые цитоскелетные образования: мощные пучки промежуточных филаментов и многочисленные микротрубочки; между этими структурами обнаружены взаимодействия. Промежуточные филаменты сгруппированы в узкие длинные пучки диаметром до 200–240 нм. Пучки состоят из тесно упакованных филаментов, обнаруживающих двукратную структуру толщиной до 15–18 нм. Протяженность пучков на отдельных срезах достигает 5–15 мкм. Однако их длина значительно больше, поскольку обычно они волнообразно изогнуты, что хорошо заметно на срезах наклонных к продольной оси клеток. Пучки промежуточных филаментов особенно типичны для базальных и центральных частей клеток. Чаще они располагаются вдоль боковых поверхностей параллельно латеральной плазматической мембране и достигают надъядерной области.

Четко просматривается взаимодействие этих пучков с отдельными микротрубочками. Последние также хорошо развиты в эпителиальных клетках иглокожих. Особенно характерна их локализация в апикальных участках клеток, где обычно сосредоточены секреторные гранулы, микропузырьки. Группы отдельных микротрубочек часто локализуются в суженных участках

цитоплазмы: пассивный транспорт субстратов здесь затруднен, и микротрубочки, очевидно, способствуют их продвижению. Обнаружены тесные контакты микротрубочек с частицами гликогена, пузырьковидными элементами эндоплазматической сети и секреторными гранулами.

Таким образом, развитие мощной системы промежуточных филаментов, очевидно, способствует укреплению структуры клеток и поддержанию их необычной формы. Динамичность цитоскелета обеспечивает изменение формы и снижение высоты клеток эпителия при растяжении пищей органов пищеварительного тракта. Развитая система микротрубочек служит для перемещения различных элементов цитоплазмы, что особенно важно в узких клетках. Сложная организация цитоскелета, вероятно, связана и с мультифункциональностью: специализированные клетки обычно выполняют 2-3 дополнительные функции. Наконец, развитый цитоскелет обеспечивает выраженную полярность и компартиментализацию цитоплазмы.

Следует отметить, что степень развития цитоскелетных образований в различных клетках варьирует, образуя динамичную структуру, непрерывно подстраивающуюся в соответствии с предъявляемыми к ней требованиями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Филимонова Г.Ф. Функциональная морфология пищеварительной системы иглокожих. — Л.: Наука, 1979. — 119 с.
2. Фултон А. Цитоскелет: Архитектура и хореография клетки. — М.: Мир, 1987. — 117 с.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИМИЧЕСКОГО ГОРМОНАЛЬНОГО ФАКТОРА (ТИМАЛИНА) В ЭПИТЕЛИЯХ РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ У ПЛОДА ЧЕЛОВЕКА

З.С. Хлыстова, И.И. Калинина
(Москва)

Одними из факторов дифференцировки Т-лимфоцитов являются гормональные вещества, выделяемые ретикуло-эпите-

лиальными клетками тимуса. В настоящее время из тимуса выделена группа полипептидных факторов, многие из которых являются тимусными гормонами. Иммуноцитохимические исследования гетероантисывороток, полученных против неочищенных, очищенных или синтетических тимусных гормонов (включая тималин, α -тимозин, тимопоэтин), показали, что эти полипептиды имеют внутритимусную локализацию [2].

Показано, что тимические эпителиальные клетки не являются единственными, содержащими тимусные гормоны. Установлен факт присутствия тимопоэтина в клетках эпидермиса кожи [4]. Известно, что β_4 -тимозин присутствует, кроме тимуса, также в головном мозге, селезенке, почках, печени, легком [3].

Советскими авторами В.Г. Морозовым и В.Х. Хавинсоном [1] получен из тимуса новый лекарственный препарат — тималин, являющийся, как и тимозин (фракция 5), комплексом полипептидов, имеющих молекулярную массу 1 000–5 000 Д. По представлениям этих авторов, тималин относится к группе пептидных медиаторов, регулирующих межклеточные взаимодействия в системе иммунитета и оказывающих влияние на дифференцировку субпопуляций Т-лимфоцитов.

В данной работе методом непрямой иммуофлюоресценции с применением специфической антисыворотки против тималина на криостатных срезах ряда органов: надгортанник, трахея, легкое, пищевод, кожа, кишечник, печень, селезенка плода человека в возрасте 20–25 недель развития, определялись тималинположительные клетки.

Установлено наличие тималинположительных клеток не только в тимусе, но также в надгортаннике, трахее, пищеводе, легком, коже. Отсутствовали тималинположительные клетки в кишечнике, печени, селезенке. На контрольных срезах, полученных от тех же органов, но обработанных вместо антитималиновой антисывороткой забуференным раствором физиологическим, флюоресценция отсутствовала.

Ранее нами показано, что экспрессия тималина клетками тимуса эмбриона человека начинается очень рано (со стадии 4–6 недель развития) и предшествует заселению органа лимфоидными клетками. У эмбриона 6 недель развития тималинположительные клетки располагались диффузно по органу, образуя сеть. К 20–25 неделям развития также клетки концентрировались в мозговом веществе, образуя сеть, и располагались тонким слоем в субкапсулярной области. Периферические клетки

телец Гассала также экспрессировали тималин. Следует отметить, что наши данные, касающиеся локализации в тимусе тималинположительных клеток, совпадают с данными Haynes B. [2] по экспрессии тимозина.

Флюоресцирующими клетками в ряде эпителиев перечисленных органов были менее дифференцированные клетки. Например, в коже тималин экспрессировали клетки базального слоя эпидермиса, в трахее — базальные и промежуточные клетки многорядного эпителия. Более интенсивная флюоресценция отмечена в эпителии кожи, трахеи, слабее — в эпителии пищевода, надгортанника.

Анализ собственных результатов и данных литературы позволяет заключить, что экспрессия тимусного препарата — тималина — свойственна не только эпителию тимуса, но также эпителиям других органов, имеющим морфогенетическое сходство с тимическим эпителием.

ЛИТЕРАТУРА

1. Морозов В.Г., Хавшисон В.Х. Иммунологическая функция тимуса // Успехи совр. биол. и мед. — 1984. — С. 36-50.
2. Haynes B. The human thymic microenvironment // Adv. Immun. 1984. — Vol. 36. — P. 87.
3. Horecker B.L. Thymosin beta 4: Distribution and biosynthesis in invertebrate cells and tissue // Thymic hormones and lymphokins / Ed. Goldstein A. — New York, 1984. — P. 77.
4. Stein M., Goldstein A. Phylogeny and sites of production of thymic hormones // New Exp. Model. Contr. Neoplasia: Proc. NATO ADV. Study Inst. Maratea, 1986. — P. 137-164.

АДАПТИВНОСТЬ СУТОЧНОГО РИТМА МИТОЗОВ КОРКОВЫХ ТИМОЛИМФОЦИТОВ КРЫС К ВОЗДЕЙСТВИЮ ДИНАМИЧЕСКИХ НАГРУЗОК И ФОРМАЛИНА

Ю.П. Хуссар, Э.П. Лепп, А.И. Лепп, Х.Х. Тапфер,
А.Г. Лийгант Х.А. Томуск, Е.П. Лушиков, И.У. Кольтс
(Таллинн — Тарту)

Методом суточных биоритмов исследовалась адаптивность лимфоидной ткани к воздействию 2-х видов внешнего воздействия — хронической физической нагрузки и формалиновой интоксикации. Адаптивность лимфоидной ткани к этим воздействиям ранее изучалась гистологическими методами [1, 2, 4].

Суточные же биоритмы, как правило, используются в качестве оценки общих вопросов биологии тканей при уточнении вопросов цито- и гистокинетики и функции иммунной системы.

Материал и методика

Опыты были поставлены на 66 взрослых крысах — самцах весом 200–220 г и делились на 3 группы: I — контроль, II — физическая нагрузка плаванием в течение 1 часа один раз в двое суток (общая длительность тренировки — 30 суток), III — внутримышечное введение 1 %-ного раствора формалина по 0,4 мг/кг. Животные забивались в разное время суток с интервалом в 3–4 часа (см. результаты опытов). В контроле использовались опыты, поставленные в 1975 и 1989 годах. Производилась стандартная гистологическая обработка материала. Парафиновые срезы толщиной 7 мкм окрашивались гематоксилином и эозином, азур-II эозином, железным гематоксилином по Гейденгайну. Подсчет митозов при иммерсионном увеличении производился на препаратах, окрашенных по Фельгену. В каждом случае подсчитывалось не менее 6000 лимфоидных клеток и вычислялся митотический коэффициент (МК) — количество митозов на 1000 клеток (в ‰).

Результаты опытов

Хроническая физическая нагрузка не оказывает существенного влияния на гистологическую картину и цитоконструкцию

долек тимуса (за исключением некоторого снижения количества корковых тимодимфоцитов). Аналогичные результаты были получены в лимфатических узлах под влиянием динамических и статических нагрузок [1, 2].

При формалиновой затравке развивается типичная картина акцидентальной инволюции тимуса, выражающаяся в опустошении коры долек, развитии инверсии, в резкой деструкции лимфоидных клеток, подавлении митотического деления.

Аналогичные изменения при формалиновой интоксикации отмечаются, хотя и менее выражены, в периферических лимфоидных органах — селезенке и лимфатических узлах [4].

Число лимфоцитов в норме подвергается четким суточным биоритмам. Максимальное количество лимфоцитов наблюдается в 24 часа (456 ± 42). Это связано, как известно, с суточными перераспределениями лимфоидных клеток в органах иммунной системы и циркулирующей крови. В то же время отмечаются определенные пики лимфоцитов в разные часы суток, не совпадающие со временем максимального пика (например в 12 часов 370 ± 29). Это, по-видимому, связано, с какими-то более сложными — ультрадианными ритмами цитоконструкции лимфоидных органов [3, 5].

Митотическая активность достигает максимума в 4–6 часов, МК существенно отличается от средних суточных показателей (соответственно $8,7 \pm 0,9$, $9,0 \pm 0,9$ и $3,9 \pm 0,3$; $p < 0,05$). Второй, менее выраженный пик МК отмечается в 16 часов. В остальное дневное и ночное время суток МК равняется 2–3,5 (митотическое плато).

При физической нагрузке плаванием сохраняется суточный ритм количества лимфоцитов с пиком в 24 часа, с цифровыми показателями ниже нормы (соответственно 332 ± 27 и 456 ± 42 ; $p < 0,05$). Митотическая активность не отличается от нормы. Более того, ритм митозов более четкий (соответствующие пики $9,0 \pm 0,9$ и $10,2 \pm 0,9$).

При затравке формалином нарушается суточный ритм количества лимфоцитов. Количество их снижается до 30–40 % от исходного (контрольного) уровня. Увеличиваются внутригрупповые колебания цифровых показателей (стандартное квадратичное отклонение увеличено). На фоне резкого падения митотической активности (2–4 раза по отношению к контролю) сохраняется суточный ритм деления: МК в 4 часа соответственно $8,7 \pm 0,9$ и $1,8 \pm 0,3$; $p < 0,05$. Стандартное квадратичное отклонение по-

казателей высокос, достигает 35 % (в 20 часов МК равняется $0,6 \pm 0,2$). Это, по-видимому, отражает различие в индивидуальной чувствительности животных к формалину.

Обсуждение и заключение

Суточные биоритмы деления лимфоидных клеток закладываются в постэмбриональном периоде. Методом меченых НЗ-тимидином митозов установлена и длительность митотического цикла, непосредственно связанного с развитием суточных биоритмов деления клеток. Идеальный суточный (24-часовой) ритм встречается тогда, когда длительность митотического цикла равна 24 часам. В самом деле, большинство клеток лимфоидной популяции имеет более короткую длительность цикла — от 6 до 12 часов.

Это отражается и в результатах настоящей работы: кривая, отражающая суточный МК лимфоцитов имеет не прямолинейный, а зубчатый характер. Более заметный пик приходится на 16 часов ($T=12$ часам). Длительность митотического цикла остальных популяций лимфоидных клеток колеблется от 0 до 24 часов, и суммарный МК составляет т.н. корковое плато митотической активности.

При физической нагрузке сохраняется суточный ритм количества лимфоцитов, а ритм митотической их активности даже более резко выражен. Адаптирующая физическая нагрузка средней интенсивностью оказывает синхронизирующее влияние на корковые тимолимфоциты, ускоряется дифференцировка клеток с образованием большей их популяции с длительностью цикла в 24 часа.

При формалиновой интоксикации на фоне классической картины акцидентальной инволюции исчезает суточный ритм количества лимфоцитов, нарушается их циркуляторная способность, а возможно и популяционная кинетика в целом — пролиферация, дифференцировка, миграция (кора — мозг) и т.д. На фоне резкого падения митотической активности сохраняется ритм МК. Аналогичные данные были получены нами при острой лучевой болезни крыс, вызванной однократным общим рентгеновским облучением в сублетальных дозах [6].

Суточный ритм деления корковых тимолимфоцитов крысы имеет высокую адаптивную способность, и полной десинхронизации не наблюдается даже при дезадаптирующих дозах 1 %-го формалина (0,4 мг/кг внутримышечно).

ЛИТЕРАТУРА

1. Вихрук Т.И. Особенности конструкции паховых лимфатических узлов белых крыс в норме и под влиянием динамических нагрузок // Арх. анат. — 1980. — Т. 78, № 2. — С. 25-29.
2. Вихрук Т.И. Изменение структуры и клеточного состава паховых лимфатических узлов белых крыс под влиянием динамической и статической нагрузок // Арх. анат. — 1981. — Т. 80, № 5. — С. 23-30.
3. Ермолина Л.В., Катинас Г.С., Лянко О.Г. и др. Пространственно-временная организация лимфоузлов // Хронобиология и хрономедицина. — Астрахань, 1988. — С. 44-45.
4. Лени Э.П., Хуссар Ю.П. Гистоадаптация лимфоидной ткани селезенки при формалиновом стрессе // Тез. докл. конф. "Функциональная морфология лимфатических узлов и других органов иммунной системы и их роль в иммунных реакциях (22-23 дек. 1983)". — М., 1983. — С. 103.
5. Смирнова Т.С. Временная организация маргинальной зоны лимфатического узла // Морфофункциональные особенности адаптации организма. — Л., 1988. — С. 80-83.
6. Хуссар Ю.П. К вопросу о суточном ритме лимфоцитов тимуса в норме и при острой лучевой болезни // Арх. анат. — 1966. — Т. 51, № 10. — С. 109-112.

ПРОБЛЕМНЫЕ ВОПРОСЫ СТРОЕНИЯ И ФУНКЦИИ ЛИМФОИДНОЙ ТКАНИ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА

В.А. Четвертных

(Пермь)

Лимфоидная ткань пищеварительного тракта в эволюции и онтогенезе претерпевает изменения, обусловленные не только темпами ее преобразования, но и в связи с собственной программой развития. Этим решается двуединая задача — обеспечение процессов пищеварения и защита организма от действия всевозможных антигенов. Однако среди всех классов позвоночных животных, вплоть до пойкилотермных, имеются виды с полным отсутствием лимфоидной ткани в составе пищеварительной трубки. По-видимому, лимфоидная ткань не является обязательным компонентом пищеварительного канала для каждого из

видов животных, поскольку при ее отсутствии защитная функция способна компенсироваться другими органами лимфоидного комплекса, включая вилочковую железу и костный мозг. С усилением в эволюции общего развития лимфоидной ткани в стенке пищеварительной трубки необходимость в подобного рода компенсации снижается, но полностью не исчезает. И даже у птиц и низших млекопитающих с невысоким содержанием лимфоидной ткани в системе пищеварения вилочковая железа в большинстве случаев проявляет компенсирующие свойства, выполняя одновременно с центральной и роль вторичного органа иммунитета. Исходя из сказанного, можно прийти к заключению, что регуляция деятельности лимфоидной ткани организма осуществляется не только со стороны центральных органов иммунитета, но и периферических и не в последнюю очередь со стороны лимфоидной ткани органов пищеварения. Однако эта проблема изучена пока слабо и требует к себе пристального внимания.

Вместе с тем более глубокие морфофункциональные исследования данного вопроса, как и других моментов изучения иммунологических реакций на тканевом уровне, тормозятся отсутствием определения понятия "лимфоидная ткань". В многотомном руководстве по гистологии Хэма и Кормака лимфоидная ткань определяется как разновидность соединительной ткани. Но при таком определении исключается самостоятельность существования лимфоидной ткани и становится совершенно непонятной структура лимфо-эпителиальных органов, которых только в составе пищеварительной трубки имеется несколько. Трудности в решении указанной проблемы, как известно, связаны с пересмотром прежних представлений о структуре ретикулярной ткани, считавшейся составной частью лимфоидной ткани. В настоящее время приходится признать, что ретикулярный тип строения присущ самым различным тканям и отражает собой лишь способ взаимосвязи клеток друг с другом. Главным же в лимфоидной ткани является необходимость создания в ней возможностей для пролиферации, созревания лимфоидных клеток и проявления ими своих специфических свойств. Этому способствует, так называемое, микроокружение. Но к микроокружению относится масса различных тканевых структур и даже веществ, в связи с чем на этой основе конкретного развернутого определения лимфоидной ткани также дать трудно. Поэтому, очевидно, можно говорить лишь о взаимодействии лимфоидных и нелимфоидных типов клеток или их ассоциаций. Так, в со-

ставе пищеварительного канала имеются миндалины, диффузная лимфоидная ткань, лимфоидные узелки, пейеровы бляшки, аппендикс, фабрициева сумка у птиц и ряд других образований. Во всех случаях лимфоциты свои функции осуществляют либо во взаимодействии с эпителиями, либо с клетками соединительной ткани, либо с дендритическими клетками, отдельно с фибробластами или свободными макрофагами и т.д. В каждой из этих ситуаций структура лимфоидной ткани отличается своей строимой, поскольку в интегративные связи с лимфоцитами вступают различные по генезу клеточные элементы и поэтому результаты ответных реакций лимфоидных клеток также будут существенно отличаться. Следовательно, говорить о лимфоидной ткани как о единообразной структуре не приходится.

Существует ли выход из данной проблемы? Альтернативным вариантом, вероятно, мог бы стать органичный характер построения лимфоидной ткани. Однако в этом случае пришлось бы дробить лимфоидную ткань на множество других. Целесообразнее, очевидно, взять за основу внешние признаки взаимоотношений лимфоцитов с теми или иными структурами пищеварительного аппарата. В таком случае классификация лимфоидной ткани может выглядеть следующим образом: 1. Диффузная лимфо-десмальная ткань. В нее будут входить все взаимосвязи лимфоидных клеток с клетками собственно соединительной ткани и соединительной ткани с особыми свойствами; 2. Узелковая лимфо-десмальная ткань. К ней будут относиться лимфоидные узелки; 3. Диффузная лимфо-эпителиальная ткань. Она имеется вдоль всего пищеварительного канала. Лимфоциты во всех видах эпителия находятся во взаимосвязях на основе антигенпредставляющей функции их эпителиоцитов; 4. Узелковая лимфо-эпителиальная ткань. Примером тому являются лимфоидные структуры фабрициевой сумки птиц; 5. Пейеровы бляшки (кишечные миндалины). В данном случае предпочтительнее вернуться к старому названию, чтобы не путать их с узелковыми лимфо-эпителиальными структурами.

Приведенная классификация, как можно видеть, не является ни морфофункциональной, ни генетической. Но, как нам представляется, она более точно определяет компоненты лимфоидной ткани и ее местоположение в организме. Если же лимфоидной ткани дать более классическое определение, то и тогда мы не получим полного представления о ее структуре и функции. С этих позиций определение должно звучать так: "Лимфоидная

ткань есть фило- и онтогенетически обусловленный одно- или многодифференный вид ткани, представленный совокупностью различных субпопуляций развивающихся и зрелых лимфоидных клеток, находящихся во временных и сложных интегративных связях с нелимфоидными типами клеток, обеспечивающих формирование всех видов специфических иммунных реакций и регуляцию постоянства клеточного состава организма".

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе заслушанных и обсужденных докладов, в том числе и стендовых сообщений, республиканское совещание "Тканевая биология — V" считает необходимым обобщить следующее.

Совещание "Тканевая биология — V" посвящено важным и актуальным вопросам и новым проблемам современной биологии и медицины.

Специально отмечалось приближение юбилейной даты — в 1992 году исполняется 200 лет со дня рождения выдающегося биолога-эмбриолога Карла Эрнст фон Бэра.

Эволюция Тартуских совещаний и возрастающее количество докладов из различных городов (включая и Прибалтийские, и Сибирские научные центры) приведены в таблице:

	I-1964	II-1976	III-1980	IV-1985	V-1990
Тарту	9	22	21	34	27
	45 %	59 %	52 %	65 %	44 %
Таллинн	—	1	5	5	1
Рига	—	—	—	—	4
Каунас	—	—	—	—	2
Санкт-Петербург	11	16	12	8	12
Москва	—	—	4	6	13
Горький	—	—	3	—	—
Калинин	—	—	2	—	—
Харьков	—	—	1	—	—
	55 %	41 %	48 %	35 %	56 %
Обнинск	—	—	1	—	—
Дальн. Зеленцы	—	—	1	—	—
Ярославль	—	—	—	—	1
Новосибирск	—	—	—	2	—
Тюмень	—	—	1	5	1
Пермь	—	—	—	—	1
Киров	—	—	—	—	1
Омск	—	—	—	—	1
Всего:	20	39	50	60	64

На совещании "Тканевая биология — V", как и на предыдущих совещаниях, объединились и скоординировались проблемы биологии тканей, исследуемые патологами и гистологами различного профиля, представляющие собой фундаментальные проблемы биологии и медицины. Комплексно исследовались

проблемы структурности и морфогенеза клеток, тканей и органов в норме, эксперименте и патологии. Были обсуждены следующие узловые вопросы: развитие эволюционного принципа в гистологии (6 докладов), детерминация, формирование и дифференцировка тканей (7 докладов), пролиферация и дифференцировка клеток тканей (11 работ), реактивные изменения тканей в норме и патологии (15 докладов), нейрогуморальная регуляция пролиферативных процессов (14 работ), индуцированный гистогенез (5 работ) и биология лимфоидной ткани (6 докладов).

Участники совещания констатируют, что Тартуские конференции стали традиционными и являются плодотворными для дальнейшего развития морфологии, в частности в республике. Участники считают необходимым проведение совещания в течение 2-х дней, как это было раньше. Делегаты единогласно констатируют необходимость улучшения базы и оснащения морфологических кафедр Тартуского университета. Старый и Новый анатомикумы амортизированы и давно не пригодны для (работы) морфологических кафедр.

Участники считают целесообразным дальнейшее регулярное проведение Тартуских совещаний по тканевой биологии через каждые четыре года и регулярное издание материалов в университетском издательстве (по возможности через более короткие интервалы — (2 года).

ISSUE BIOLOGY.

Reports of the 5th republican scientific
meetings of the tissue biology.

June 5 1990.

Tartu Ülikool.

EE2400 Tartu, Ülikooli 18.

7,88. 7,5. T. 324. 300.

TÜ trükikoda. EE2400 Tartu, Tiigi t. 78.