

Л. М. ГРИГОРЬЕВ, А. Н. ШЕЛКУНОВ

**РОСТ И ВТОРИЧНАЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКА
ЭКСПЛАНТИРОВАННОЙ СЕРДЕЧНОЙ МЫШЦЫ ВЗРОСЛЫХ
МЛЕКОПИТАЮЩИХ**

(Представлено академиком Б. Л. Астауровым 25 IV 1973)

Проблема дифференцировки тканей животного организма занимает одно из центральных мест в биологии. Приобретает важное значение получение феномена вторичной дифференцировки эксплантированных высокоспециализированных тканей, что, помимо самостоятельного интереса, прошло бы свет на процесс дифференцировки тканей в целом организме. Положительные данные в этом направлении позволяют установить и уточнить факторы, определяющие вторичную дифференцировку высокоспециализированных тканей, культивируемых вне организма. Так, наши опыты ⁽¹⁾ по культивированию *in vitro* сердечной мышцы взрослых птиц (кур) показали, что вторичной дифференцировке мышечных элементов предшествует дедифференцировка мышечных волокон. Последняя является обязательным условием для реализации вторичной дифференцировки, отсюда и понятие — вторичная дифференцировка. Наши исследования с эксплантированной сердечной мышцей взрослых птиц дали исчерпывающее решение этого вопроса. В связи с этим приобретает значение сравнительно-морфологическое изучение, так как полученные на птицах строго проверенные факты требуют подтверждения на более обширном материале. Поэтому следующим этапом являлось изучение этих вопросов на воссоздаваемой вне организма сердечной мышце взрослых млекопитающих. Положительное решение этой задачи дало бы возможность прогнозировать эксперименты с культивированием *in vitro* сердечной мышцы взрослого человека, взятой из сердца умерших людей. Это было бы заключительным этапом в решении фундаментальной биологической проблемы — изучение дифференцировки тканей в условиях проведения исследований вне организма.

Настоящее сообщение посвящено изложению полученных морфологических данных при выращивании *in vitro* сердечной мышцы взрослых млекопитающих.

Исследовались взрослые кролики весом от 2,5 до 4 кг, всего было 40 кроликов. Однако число подопытных животных не имеет значения, так как важное получение результатов независимо от количества исследуемых животных. Вырезались кусочки миокарда из желудочков сердца кроликов. Питательной средой служил эмбриональный сок куриных зародышей 10—12-дневной инкубации. Плазма крови бралась от кроликов. Культивирование кусочков сердечной мышцы проводилось в стеклянных блюсах и продолжалось 10—12 дней. Уже из первых наблюдений можно было заключить, что, если эмбриональный сок готовился из целых куриных зародышей, то рост, как правило, был очень скучный, или даже его совсем не было. Возникал вопрос: чем, собственно, вызывалось такое нежелательное явление? Из экспериментальных исследований, посвященных изучению влияния вытяжек из различных органов на рост эксплантированных тканей, известно ⁽²⁾, что экстракт из печени обладает ингибирующим действием на рост последних. Исходя из этого, в наших опытах полностью исключалась печень, и для приготовления питательного субстрата исполь-

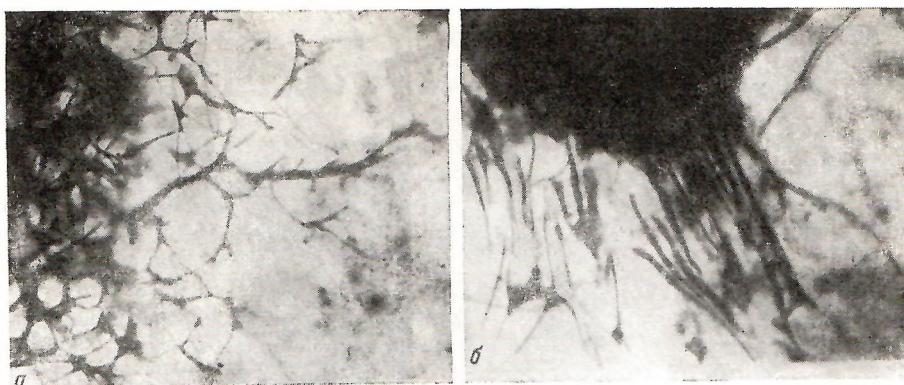


Рис. 1. Рост эксплантированной сердечной мышцы взрослого кролика. *а* – в форме миобластов, ок. 7 \times , об. 10 \times ; *б* – в форме миосимпластов, ок. 7 \times , об. 20 \times . Здесь и на рис. 2 – десятидневная культура

зовались только головки куриных зародышей. Этот прием позволил получать хороший рост высаженных кусочков миокарда взрослых кроликов (рис. 1а). Культивирование проводилось без смены питательной среды; затем культуры фиксировались в 10–12-процентном нейтральном формалине с последующей обработкой по Бильшовскому в модификации Букэ.

Рост эксплантированной сердечной мышцы взрослого кролика полностью повторяет картины роста, которые описаны нами при культивировании вне организма миокарда взрослых кур (¹). В сериях опытов преvalирует дискомплексация мышечных волокон, т. е. рост протекает в форме отдельных миобластов. Для последних является характерным их полиморфизм, может быть в какой-то степени более выраженный у миобластов взрослых кроликов. Миобlastы имеют веретенообразную, округлую, звездчатую, паукообразную, древовидную и т. д. форму. Некоторые из миобластов достигают гигантских размеров, во много раз превышающих размеры остальных миобластов. Отдельные миобlastы имеют отчетливо выраженные миофибриллы, но без наличия поперечной исчерченности. Миофибриллы очень нежные, пронизывают всю саркоплазму клетки, строго ориентированы по длиной оси последней, не сливаются между собой, будучи разделены друг от друга небольшими просветами. Из этих наблюдений совершенно обоснованно следует, что образование миофибриллярных структур предшествует сформированию поперечноисчерченного миофибриллярного аппарата. Полиморфизм миобластов в культурах обусловлен главным образом тем, что большинство их имеет много протоплазматических отростков, которые передко настолько длины, что значительно превышают диаметр тела клетки. Протоплазматические отростки миобластов являются морфологическим отображением тропизма, в том числе стереотропизма Гаррисона (³), так как протеолиз в той или другой степени всегда имеет место в культурах тканей животных. Кроме роста эксплантированной сердечной мышцы взрослого кролика в форме миобластов, во многих культурах отмечается смешанный рост, когда паряду с миобластами наблюдается рост в форме миосимпластов (рис. 1б). При этом можно иногда наблюдать картину, когда миосимпласты располагаются друг над другом, образуя довольно массивные толстые структуры, что, естественно, затрудняет их микротомию, причем нельзя получить четкую картину на всю глубину препарата, поскольку эти миосимпласты лежат в разных плоскостях.

Обычными методами гистологической обработки невозможно дифференцировать клетки стромы от миобластов, где нет миофибриллярных структур. Если учесть при этом их гистогенетическую однородность, то

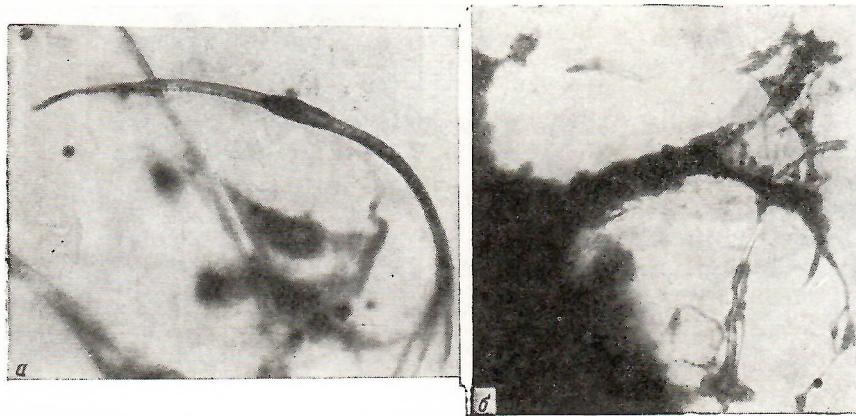


Рис. 2. Вторично дифференцированный миобласт (а) и миосимпласт (б), ок. 7Х, об. 40Х

эти трудности становятся еще более понятными. Имеет ли место и возможна ли индукция, трансформирующая клетки стромы в миобласты, — задача самостоятельного исследования. Во всяком случае невозможность дифференцировать эти два вида клеток является дополнительным доказательством реальности процесса морфологической дедифференцировки таких высокоспециализированных тканей, как мышечная (включая сюда и скелетные мышцы, что показано в наших исследованиях по эксплантации последних и их вторичной дифференцировке в культурах). Культивирование вне организма сердечной мышцы взрослого кролика наряду с получением недифференцированного роста позволило также решить задачу получения вторичной дифференцировки растущих мышечных элементов. Последняя была установлена как у миобластов, так и у симпластов. У миобластов (рис. 2а) этот процесс имел своим морфологическим выражением формирование нежных поперечноисчерченных миофибриллярных структур. Вторичная дифференцировка миобластов характеризуется той особенностью, что этот процесс, как правило, имеет место в одном протоплазматическом отростке клетки. И это относится не только к миобластам с двумя отростками, т. е. веретенообразным клеткам, но и к миобластам с многочисленными отростками. Иными словами, процесс вторичной дифференцировки миобластов не является синхронным, охватывающим единовременно всю клетку со всеми ее отростками. Это явление было нами установлено и раньше (1) при эксплантации миокарда взрослых птиц.

Таким образом, процесс вторичной дифференцировки связан с готовностью клетки к реализации потенции миобlasta к формированию таких специализированных структур, как поперечноисчерченный миофибриллярный аппарат. Вторичная дифференцировка миобластов, согласно нашим данным, демонстрирует иную форму своего морфологического выражения, а именно: она распространяется на всем протяжении миобластов. Рис. 2б показывает поперечноисчерченную миофибриллярную структуру на периферических (свободных) концах вторично дифференцированных мышечных волокон (другими своими концами они связаны с высаженным кусочком миокарда взрослого кролика). Этот рисунок демонстрирует рост и вторичную дифференцировку миосимпластов, наслойившихся друг на друга, и только на свободных концах они несколько расходятся, сохраняя поперечноисчерченную структуру. Эти концы миосимпластов находятся в одной плоскости, что позволяет зафиксировать структуру на микрофотографии. В более проксимальных отделах по отношению к высаженному кусочку миокарда вторично дифференцированные мышечные волокна рас-

положены в разных плоскостях, будучи наслойны друг на друга, и поэтому получить микрофотографии на всю глубину препарата невозможно. Кроме того, рис. 2б показывает, что вторично дифференцированные мышечные волокна продолжают свой рост, что закономерно, и для вторично дифференцированных мышечных волокон взрослых птиц. Необходимо отметить также, что поперечноисчерченный миофибриллярный аппарат во вторично дифференцированных мышечных волокнах взрослых птиц (кур) и млекопитающих (кроликов) более груб, чем в интактных мышечных волокнах миокарда и скелетных мышц.

Итак, метод эксплантации позволил с исчерпывающей ясностью доказать реальность роста и вторичной дифференцировки сердечной мышцы у взрослых млекопитающих. Помимо этого сравнительный морфологический аспект изучения данной проблемы констатировал, что закономерности, определяющие эти процессы, общие для птиц и млекопитающих.

Областная больница № 2
Великие Луки Псковской обл.

Поступило
25 IV 1973

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Д. М. Григорьев, *Ceskoslowenska Morfologie*, 8, № 1, 1 (1964). ² G. Levi, *Ergebn. Anat. Entw.-gesch.*, 31, 125 (1934). ³ R. G. Harrison, *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 4 (1907).