

612.013/R-111

W7

Проф. С. В. АНИЧКОВ и д-р Н. Г. ХЛОПИН

W 89

ПЕРЕЖИВАНИЕ ОРГАНОВ
и КУЛЬТУРА ТКАНЕЙ
ВНЕ ОРГАНИЗМА

Рабочее Издательство «ПРИБОЙ»
Ленинград 1925

012.013

54/18374

63

С. В. АНИЧКОВ

Проф. Военно - Медицинской Академии

ПЕРЕЖИВАНИЕ ОРГАНОВ

ПОСВЯЩАЕТСЯ
ПАМЯТИ
ГЛУБОКОУВАЖАЕМОГО УЧИТЕЛЯ
ПРОФЕССОРА
Николая Павловича
КРАВКОВА

Введение.

Организм животных и человека представляет стройное целое, отдельные части которого, органы, связаны в своей деятельности строгой зависимостью. Для координирования деятельности отдельных органов в животном организме, служит сложная и тончайше построенная нервная система, а, с другой стороны—кровью, омывающую все ткани и органы, передаются от одного органа к другому всевозможные вещества, и это обуславливает связь и зависимость между отдельными частями организма, не менее существенную, чем связь нервная.

Однако, как ни сильна зависимость отдельных органов от организма, как целого, все же многие, если не все, органы даже высших животных обладают известной долей самостоятельности.

Наиболее ярким тому доказательством служат опыты над изолированными органами, когда орган, вырезанный из тела животного, отделенный совершенно от остальной части организма, посаженный в искусственные условия—продолжает проявлять ту жизнедеятельность, которая свойственна ему при жизни всего организма.

Метод исследования изолированных органов завоевал себе широкое применение в физиологии и в экспериментальной медицине. При помощи этой методики выясняются физиологиче-

ские особенности данного органа вне тех сложных условий, которые существуют в целом организме.

Исследованию изолированных органов посвящены многочисленные работы, и этот метод применен к изучению различных областей животного тела.

В краткой статье нет возможности охватить весь относящийся к этому вопросу материал, но автор считал бы задачу свою выполненной, если читатель получит хотя бы общее представление о методике исследования изолированных органов, о новых достижениях, полученных с помощью этого метода, и о тех надеждах, которые мы в праве возлагать на дальнейшую работу в том же направлении.

Исследование изолированного сердца.

Сердце—один из важнейших по своему значению органов. Немудрено, что к исследованию его деятельности проявляется особый интерес. Сердце является тем насосом, который, непрерывно работая, поддерживает кровообращение, и поскольку жизнь тканей высших животных невозможна без постоянного притока крови, жизнь животного невозможна без биения сердца.

Работа сердца находится под влиянием нервных центров, и это влияние осуществляется путем центробежных нервов, идущих к сердцу. Зависимость сердца от центральной нервной системы каждый может заметить на себе: чувство волнения, нервное возбуждение зачастую сопровождается усиленным сердцебиением; иногда, наоборот, психические явления, как например страх, влекут за собой временное, но резкое замедление сердечных сокращений.

Это влияние сердечных нервов на деятельность сердца тщательно изучено и доказано точными физиологическими опытами; однако является совершенно бесспорным, что сокращения сердца, чередующиеся с расслаблениями, т.-е. та правильная работа, которая называется ритмической работой сердца, находится лишь как бы под контролем нервной системы и может продолжаться с присущей ей закономерностью и без всякого воздействия внешних нервных импульсов. Сердце может продолжать свою работу вне организма, если оно поставлено в условия, при которых может продолжаться жизнедеятельность его тканей.

Мир животных представляет бесчисленное множество отдельных видов, расположенных в стройную лестницу по степени сложности своей анатомической структуры. Чем выше стоят

животный организм по этой лестнице, чем сложнее построено его тело, тем сложнее те условия, которые необходимы для нормальной жизнедеятельности его тканей и органов.

Значительно легче производить опыты изолирования органов низших, холоднокровных позвоночных: рыб, земноводных, пресмыкающихся, чем заставить работать вне организма те же органы высших животных — животных млекопитающих и человека.

Сказанное в полной мере относится к изолированию сердца. Сердце низших позвоночных гораздо проще по своему строению, что упрощает технику изоляции; для жизнедеятельности его не требуется постоянной высокой температуры, и опыт может производиться при обыкновенной комнатной температуре; наконец, жизненные процессы в тканях холоднокровных идут значительно менее интенсивно, и для поддержания работы сердца холоднокровных требуется меньше питательных веществ и кислорода, чем для жизнедеятельности сердца животных теплокровных.

1. Изолированное сердце лягушки.

Из холоднокровных позвоночных лягушка, благодаря своей большой распространенности, является одним из наиболее доступных и вместе с тем часто применяемых животных для лабораторного физиологического исследования.

С тех пор, как со второй половины прошлого века стал применяться метод изолированных органов, изолированное сердце лягушки служило объектом для многочисленных исследований.

Сердце лягушки чрезвычайно жизнеспособно: не надо никаких особых приспособлений или приборов, чтобы наблюдать сокращения вырезанного сердца лягушки. Наблюдение это доступно каждому. Для этого вскрывают лягушку средней стенкой грудной клетки, обнажив таким образом внутренние органы. Чтобы напрасно не мучить животное, следует предварительно усыпить лягушку, поместив ее под колпак, куда брошена ватка, смоченная эфиром или хлороформом. Затем осторожным вскрытием сердечной сорочки, покрывающей сердце, оно обнажается, и глазам наблюдателя представляется его биение. Сердце лежит свободно в полости своей сумки, и как бы подвешено на крупных сосудах, выходящих из его

широкого основания, обращенного кверху. Тонкими ножницами, которыми производится вся операция, перерезаются эти сосуды, и сердце освобождается от связи с остальным организмом. Однако сокращения его продолжают, и их можно наблюдать, оставив сердце лежать в той крови, которая вытекла из сосудистой системы лягушки при производстве описанной операции. Кровь эта однако свертывается, вследствие чего представляются многие затруднения для дальнейшего экспериментирования.

Для производства длительного опыта надо применить другую простую и постоянную по своему составу жидкость, которая могла бы заменить кровь.

Если мы положим вырезанное сердце лягушки в простую или дистиллированную воду, оно тотчас перестает сокращаться, и ткани начнут набухать, так что через несколько времени оно будет представляться набухшим, впитавшим в себя воду. Прекращение биения сердца и дальнейшее набухание зависят от резкой разницы в содержании растворенных солей в воде и в животных тканях, т.е. от разницы в осмотическом давлении. Напротив того, сокращения сердца продолжают совершаться, если поместить вырезанное сердце в водный раствор поваренной соли (NaCl), концентрация которого приблизительно равна содержанию этой соли в крови лягушки. Такой раствор называется физиологическим раствором соли. Вследствие того, что он содержит приблизительно одинаковые с кровью количества молекул соли на один кубический сантиметр, он обладает одинаковым с кровью и тканями осмотическим давлением. Растворы равного осмотического давления называются изотоническими. Физиологический раствор соли, содержащий 0,6% NaCl , изотоничен крови и тканям лягушки. Этот раствор является индифферентным не только для сердца, но и для других тканей и клеток лягушки. Так, например, красные кровяные шарики разбухают в дистиллированной воде вследствие разности осмотического давления, но остаются совершенно неизменными, если кровь разбавляется не водой, а физиологическим раствором соли.

Физиологический раствор часто применяется в медицине и при физиологических опытах в тех случаях, когда надо применять жидкость, не убивающую и не раздражающую живые ткани и кровь.

Сердце лягушки продолжает сокращаться, находясь в физиологическом растворе соли; однако эти сокращения далеко уступают по силе тем сокращениям, которые наблюдаются на невырезанном сердце. Мы не можем получить правильных сокращений, происходящих в течение долгого времени, промывая сердце чистым физиологическим раствором, даже если создадим искусственно то давление внутри сердца и наполнение его полостей, какое существует при жизни, и сердце, постепенно ослабевая, вовсе прекратит биться через 1—2 часа после установки в аппарат.

Методика изолированных органов получила значительное развитие лишь с тех пор, как английский ученый Сидней Рингер (Sidney Ringer) опубликовал свои наблюдения о действии солей калия и кальция на живые ткани вообще и на изолированное сердце лягушки—в частности.

Согласно его классическим изысканиям, многократно подтвержденным дальнейшими исследованиями, прибавление к физиологическому раствору соли хлористого калия или хлористого кальция в отдельности оказывает вредное действие на деятельность изолированного сердца лягушки. Если же обе эти соли прибавлены к физиологическому раствору одновременно, ядовитые их действия не только взаимно уравновешиваются, но таким образом приготовленный раствор поддерживает деятельность сердца значительно лучше, чем физиологический раствор, содержащий лишь хлористый натр.

Введение хлористого калия и хлористого кальция в жидкость, поддерживающую деятельность изолированных органов, оказало необходимым не только при опытах с сердцем лягушки, но и для опытов со всеми другими переживающими органами. Со времени исследований Рингера предложено несколько вариантов жидкостей, служащих для этой цели. Варианты эти отличаются несколько по концентрации входящих туда солей, но все они носят общее название растворов Рингера, по имени этого ученого, впервые указавшего на роль различных солей в растворах, питающих изолированные органы. Рингеру же принадлежит мысль ввести в физиологический раствор некоторое количество двууглекислого натра (сода), дабы придать ему известную щелочность.

Таким образом, составилась жидкость, которая служит для омовения изолированных органов. В частности, изолиро-

важное сердце лягушки, омываемое этой жидкостью, сокращается в течение нескольких часов, давая правильные и сильные сокращения.

Количество хлористого калия и хлористого кальция в жидкости Рингера приблизительно соответствует количеству этих солей в крови. Для различных органов животных более удовлетворительными являются несколько различные комбинации солей. Для сердца лягушки можно рекомендовать следующий состав: на один литр дистиллированной воды — NaCl —6,0; CaCl_2 —0,1; KCl —0,075; NaHCO_3 —0,1.

Сердце лягушки, попросту погруженное в рингеровский раствор, дает ритмические сокращения; но для того, чтобы получить сильные и правильные биения изолированного сердца и их точно регистрировать, необходимо несколько усложнить опыт, дабы создать условия, которые соответствуют условиям прижизненным.

Сердце лягушки представляет из себя мышечный мешочек, разделенный на три отдела — два предсердия и один желудочек. Кровь, поступающая из вен в сердце, наполняет сперва предсердия, оттуда, перегоняемая сокращением предсердий, переходит в желудочек, из которого выбрасывается в артериальный ствол. Мышечные стенки предсердий и желудочка для своей деятельности требуют питания кровью; это питание осуществляется той же кровью, которая наполняет полости сердца (особых сосудов, питающих сердце, нет). Но для правильной работы сердца, для правильного ритмического расслабления и сокращения его, необходимо, чтобы достаточное количество крови создавало в полостях сердца известное давление.

Жидкость Рингера заменяет кровь при работе изолированного сердца лягушки. Для того, чтобы работа изолированного сердца протекала приблизительно в тех же условиях, как и при жизни, необходимо чтобы жидкость наполняла полости сердца, и при сокращении оно встречало бы такое же сопротивление, какое встречает желудочек при выбрасывании крови в артериальный ствол.

Существует несколько способов, дающих возможность наблюдать и записывать работу изолированного сердца лягушки. Я опишу методику, предложенную русским исследователем проф. Березиным, разработанную им в лаборатории проф. Н. П. Кравкова. Эта методика сводится к следующему:

лягушке обнажают сердце по вышеописанному способу. В артериальном стволе (сосуд, выходящий из желудочка) тонкими ножницами делается надрез. Через надрез вставляется стеклянная трубочка с тоненьким кончиком (канюля). Тонкий конец канюли проводится внутрь желудочка сердца. В таком положении канюля закрепляется виткой, подведенной под артериальный ствол и затягивающей его на канюле. Затем сердце вырезается и остается висеть на канюле, которая вставлена через артериальный ствол в желудочек сердца. При помощи тонкой стеклянной пипетки через канюлю в полость сердца вводится рингеровский раствор, дабы отмыть сердце от оставшейся крови и избежать образования сгустков. Сердце приготовлено для опыта, и остается лишь вставить канюлю в прибор (рис. 1), который обеспечивает постоянный приток в канюлю свежей жидкости Рингера.

Эта жидкость поступает в канюлю (К) через вставленную в нее другую трубку (Г) с длинным оттянутым концом, а вытекает она из окошечек (О), сделанных в резиновой трубке, соединяющей канюлю и стеклянную с оттянутым концом трубку. Таким образом в желудочке сердца обеспечивается постоянное давление, равное столбику жидкости между сердцем и окошечками в резиновой трубке, и, с другой стороны, совершается постоянная смена жидкости в канюле благодаря постоянному притоку из внутренней трубки и оттоку через окошечки.

Сердце, поставленное в описанный прибор, дает сильные и правильные сокращения в течение многих часов; биения сердца могут быть измерены и автоматически записаны. Для этого за нижний конец его (т. е. верхушка сердца) зацепляют маленький серебряный крючок, от которого идет нитка к легкому рычажку. При сокращении сердца свободный конец рычага подымается, при расслаблении — опускается. Подъемы и опускания рычага не только наблюдаются, но он служит в качестве пера, заносящего на закопченном вращающемся барабане штрихи. Величина и частота штрихов является показателем силы и частоты сокращений изолированного сердца. После окончания опыта закопченная бумага, наклеенная на барабан, снимается, фиксируется в спиртовом растворе шеллака, и таким образом остается документ, написанный самим изолированным сердцем о своей работе.

2. Исследование на изолированном сердце лягушки действия лекарств и ядов.

Наука о действии лекарств и ядов на организм животных и человека, «фармакология», является одной из старейших медицинских наук, т. к. сведения о действии лекарств собирались и записывались врачами, начиная с древних времен. Однако, лишь с прошлого века фармакология получила свое современное направление, и из собрания разрозненных фактов, касающихся мало проверенных наблюдений о действии лекарств при различных болезнях, превратилась в точную науку, основанную на опытах.

Ставить опыты на людях, испытывая на них действие новых или мало исследованных лекарств, является с одной стороны недопустимым по моральным причинам, а с другой стороны—на людях вовсе невозможны такие опыты, при которых для наблюдения за деятельностью внутренних органов приходится прибегать к операциям и вивисекции (живо-сечение).

Современная фармакология основывается главным образом на опытах, произведенных на животных.

Поскольку основы жизненных процессов одинаковы у различных представителей животного царства, постольку и действие многих лекарств на различных животных и человека существенно не отличается. Поэтому те данные, которые получаются фармакологами при опытах на животных, могут быть в значительной степени перенесены на человека и помочь врачу при применении лекарств у больных.

Благодаря широкому развитию физиологии и усовершенствованию методов наблюдения и экспериментирования над животными, фармакология подробно изучила действие большинства лекарственных веществ, применяемых в медицине. При этом выяснилось, что действие лекарств и ядов на организм чрезвычайно сложно.

Разобравшись в картине действия какого-либо лекарства, ограничиваясь опытами над целым животным, является затруднительным, потому что, на ряду с прямым действием лекарства на различные органы, мы видим в момент этого действия отраженное и косвенное влияние на ряд других органов. Вследствие тесной связи и зависимости, которая

существует между различными отделами организма, изменение работы каждого органа немедленно вызывает нарушение функции остальных: вызывается нарушение деятельности всего сложного механизма, который представляет из себя тело животного.

Наблюдая даже самым точным образом все явления при действии лекарств или при отравлении ядом, мы с трудом можем определить, какой орган, какая функция организма изменяется от непосредственного прямого воздействия введенного в тело вещества, а какие относятся к сопутствующим, вторичным изменениям.

Для решения вопроса о механизме действия лекарств и ядов на животных, исключительно важное значение имеют опыты над изолированными органами. При этих опытах мы наблюдаем жизнедеятельность органа вне зависимости от всего тела.

Пропуская через него раствор лекарств и получая известный эффект, мы знаем, что этот эффект зависит только от прямого действия лекарства на данный орган,—все косвенные, посторонние влияния, существующие в целом организме, совершенно исключены.

При сопоставлении результатов, полученных при действии изучаемого лекарства на отдельные изолированные органы, становится понятным действие его на весь организм.

Из сказанного видно, какое существенное значение в фармакологии имеет методика изолированных органов, и становится ясным, почему фармакология больше, чем все остальные отрасли теоретической медицины, использовала этот метод для своих целей.

* * *

Чтобы иметь возможность изучать действие на сердце различных лекарственных веществ и ядов, необходимо было внести некоторое изменение в вышеописанную методику, а именно: канюлю, к которой привязано изолированное сердце, соединяется с двумя склянками, из которых одна содержит чистую рингеровскую жидкость; другая же—раствор лекарства или яда в этой жидкости; через канюлю в сердце можно пропускать содержимое то одной, то другой склянки (рис. 1).

Укажем прежде всего на правила, которые необходимо соблюдать при фармакологических опытах с изолированным сердцем. До испытания действия лекарства на сердце, в течение некоторого времени наблюдают за его нормальными

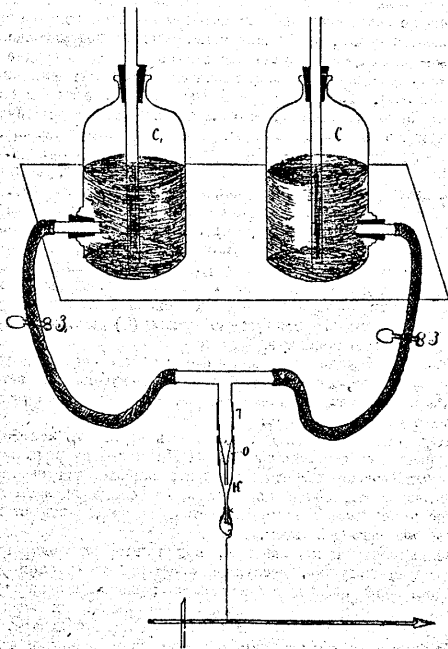


Рис. 1. Прибор для исследования изолированного сердца лягушки по способу проф. Березяна (объяснения в тексте).

сокращениями, которые автоматически записываются; затем чистая жидкость Рингера, омывающая сердце, смешивается на раствор лекарства. Лекарство должно быть растворено не на простой воде, а на жидкости Рингера. Кроме того должны быть приняты все меры, чтобы замена одной жидкости на другую не сопровождалась какими-либо иными изменениями в условиях опыта, чтобы жидкость протекала под совершенно тем же давлением и с той же быстротой и само сердце не подвергалось каким-либо механическим толчкам или иным воздействиям. Только при соблюдении всех этих условий можно быть уверенным, что те изменения, которые будут наблюдаться в работе сердца, зависят от прибавления лекарства, а не от каких-либо других посторонних причин.

Для обеспечения указанной точности опыта служит система двух одинаковых склянок, изображенных на рис. 1. В одной из них (С) помещается чистая жидкость Рингера, в другой (С₁) находится раствор лекарства. В начале опыта жидкость течет из первой склянки, а трубка, идущая из другой, запирается жалом (З₁). Когда настанет момент испытания действия лекарства, этот жалик раскрывают, пускается таким образом к сердцу содержащий лекарство раствор, а одновременно закрывается жалик (З) на трубке, приводящей чистую жидкость.

Если лекарство или яд имеет свойство оказывать действие на сердце, характер работы его немедленно изменяется, и на кривой, которую пишет сердце, заметно изменение силы и частоты его сокращений.

Подобные опыты дают возможность оценивать лекарство со стороны его действия на сердце. Мы можем из ряда предлагаемых сердечных средств выбирать наиболее могущественное и, наоборот, точно определять, насколько ядовиты для сердца иные лекарственные вещества, которые обладают побочным на него действием.

Фармакологические данные, полученные на изолированном сердце лягушки, послужили богатым материалом для решения вопросов о ценности лекарств; однако, нельзя ограничиваться этими опытами для окончательной их оценки. Сердце лягушки относится к различным ядам и лекарствам в общих чертах так же, как и сердце теплокровных и человека, но полного соответствия все же нет, и результаты, полученные на сердце лягушки, нельзя целиком переносить

на сердце человека. Значительно ближе к сердцу человека как по своему строению, так и по своим физиологическим свойствам стоят сердца различных млекопитающих животных. Опыты с изолированными сердцами млекопитающих значительно сложнее, чем с изолированным сердцем лягушки, но, по близости их к сердцу человека, подобные исследования представляют для теоретической медицины особый интерес.

3. Изолированное сердце кролика и кошки.

Сердце теплокровных и, в частности, млекопитающих отличается по своему строению от сердца лягушки, во-первых, тем, что сердца теплокровных разделены сплошной перегородкой на правые и левые желудочки и предсердия, а во-вторых—толстая мышечная стенка его питается не прямо кровью, наполняющей камеры, а посредством особых сосудов. Эти сосуды, выходящие из аорты, ветвящиеся по стенке сердца, называются венечными (коронарными) артериями.

Чтобы искусственно поддерживать питание сердца, нам, следовательно, недостаточно наполнить изотонической жидкостью камеры сердца, а необходимо установить циркуляцию ее в венечных сосудах. Для направления тока жидкости в венечные сосуды Лангендорф (Langendorff) предложил остроумный способ, применяемый и по сие время при работе с изолированным сердцем экспериментальных животных (кролик, кошка, собака).

По методу Лангендорфа (см. рис. 2), стеклянная канюля (К) соответствующего диаметра ввязывается в аорту по направлению к сердцу таким образом, чтобы конец ее не-

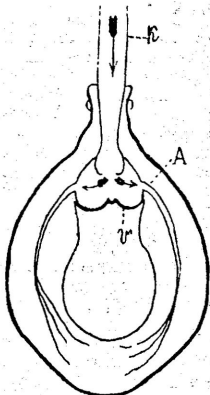


Рис. 2. Схема изолированного сердца кролика по способу Лангендорфа (объяснения в тексте).

57/18374

много не доходил до клапанов (V), разделяющих просвет аорты от левого желудочка. Жидкость, направленная в канюли под известным давлением в аорту против обычного направления тока крови, захлопывает аортальные клапаны и не может проникнуть в желудочек; жидкости остается один путь—в венечные артерии (A), которые начинаются от аорты как раз над клапанами.

Жидкость наполняет венечные артерии, по капиллярам проходит по всей мышечной ткани сердца и, собираясь затем в венечные вены, вытекает в правые предсердия, а оттуда—через открытые устья его сосудов—наружу. Этот способ обеспечивает правильную циркуляцию жидкости по венечным сосудам.

Сердца млекопитающих отличаются от сердца лягушки не только по своему анатомическому строению, но и по интенсивности жизненных процессов. При своей деятельности сердце млекопитающих расходует значительно больше кислорода и питательных веществ, а с другой стороны, составляя часть организма теплокровного животного, оно работает правильно лишь при определенной температуре—температуре тела. Вследствие этого, чтобы поддержать жизнедеятельность изолированного сердца кролика или кошки, которые чаще всего применяются для изоляции, требуется соблюдение следующих условий:

1) Питательная жидкость должна быть нагрета до температуры тела, и

2) Необходимо насыщение ее кислородом.

Для создания в опыте с изолированным сердцем указанных условий, а также для того, чтобы в венечные артерии изолированного сердца жидкость поступала под определенным и постоянным давлением, применяются аппараты, несколько различные по подробностям своей конструкции, но в принципе мало отличающиеся от аппарата, схему которого я привожу (рис. 3).

Главные части этого аппарата следующие: Мариоттова склянка (C), стеклянная бюретка (б) и эмеевик (З). В склянке находится питательная жидкость; оттуда жидкость поступает в бюретку. Уровень жидкости в бюретке, несмотря на убыль ее с течением опыта, остается неизменным вследствие того, что в склянке (C) ко дну опущена через пробку стеклянная трубка (Мариоттова система). Постоянством уровня обеспе-

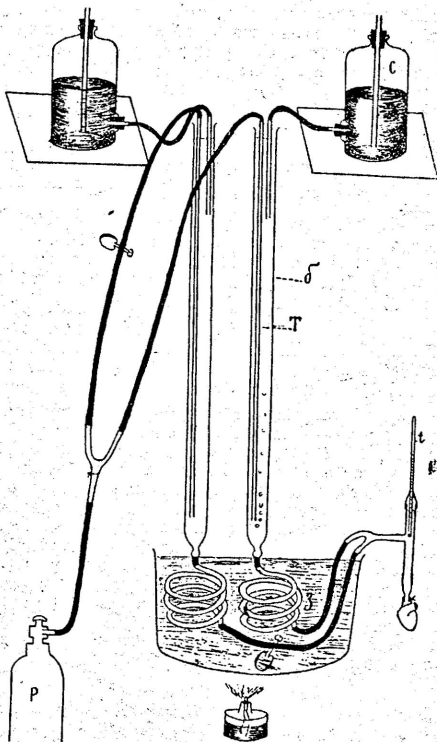


Рис. 3. Аппарат для исследования изолированного сердца кролика (объяснения в тексте).

чивается постоянное давление, равное столбу жидкости в бюретке (около 60 см. водного столба). В бюретке происходит насыщение жидкости кислородом, доставляемым по тонкой трубке (Т) из специального резервуара (Р). Кислород выходит из конца трубки (Т) и проходит пузырьками через весь столб жидкости. Из бюретки жидкость, богатая растворенным в ней кислородом, поступает в эмеевик (Э), находящийся в водяной ванне с теплой водой. Ванна при помощи горелки подогревается до температуры тела и тем самым до той же температуры нагревается жидкость, проходящая через эмеевик.

Насыщенная кислородом, нагретая до температуры тела жидкость направляется к канюле, к которой привязано по описанному выше способу сердце. Перед канюлей обычно ставится Т-образная трубка с находящимся в ней термометром (t) для измерения температуры жидкости непосредственно перед самым входом ее в сердце.

Описанный аппарат дает возможность наблюдать работу изолированного сердца кролика, кошки, щенка в течение нескольких часов при условии применения соответствующей жидкости.

Опыты с изолированным сердцем теплокровных встали на твердую почву со времени работ английского физиолога Локка (Locke), который предложил насыщать жидкость кислородом, а кроме того несколько видоизменил употреблявшийся до него раствор Рингера. Самым существенным изменением жидкости явилось введение в него органического вещества, которое могло являться питательным веществом для тканей сердца, а именно виноградного сахара, тогда как в обычном растворе Рингера находятся лишь неорганические соли.

Кроме того, Локк несколько видоизменил и солевой состав Рингеровской жидкости, приблизив ее к солевому составу крови млекопитающих. Таким образом содалась, носящая имя обоих ученых, жидкость Рингер-Локка, следующего состава:

на один литр воды—	NaCl	— 9,0
	CaCl ₂	— 0,2
	KaCl	— 0,2
	NaHCO ₃	— 0,2
	Виноградный сахар	— 1,0.

Эта жидкость вправе называться истинной питательной жидкостью для изолированных органов, благодаря содержа-

нию в ней сахара, который может служить питательным веществом для изолированного органа.

Самая операция изолирования сердца кролика или кошки несколько сложнее, чем та же процедура у лягушки. Она производится следующим образом: у животного, усыпленного хлороформом или эфиром, вскрывают область шейных сосудов и отпрепаровывают артерию и вену; артерию надрезают и, выпуская из нее кровь, обескровливают животное; одновременно в вену через вставленную в нее канюлю под достаточным давлением вливают по направлению к сердцу подогретую жидкость Рингер-Локка, чтобы совершенно отмыть всю сосудистую систему и сердце от остающейся крови. Эта процедура устраняет возможность образования в венечных артериях сгустков крови. Когда из артерии вместо крови течет уже почти чистая жидкость, быстро вскрывают грудную клетку, ватем покрывающую сердце сердечную сумку и вырезают еще бьющееся сердце. Описанным выше способом вставляют в аорту канюлю и соединяют ее с аппаратом. Как только подогретая питательная жидкость, насыщенная кислородом, проникнет в венечные артерии, сердце, в большинстве случаев вовсе прекращающее работать во время вырезания, начинает вновь правильно и энергично сокращаться. Эти энергичные сокращения изолированного сердца, несколько не отличающиеся от его биения при жизни, представляют поразительную картину, производящую огромное впечатление на зрителя.

Разумеется, для точного исследования недостаточно одного наблюдения глазом за работой сердца, и для регистрации его деятельности применяется ряд способов, из которых самый простой тот, который описан выше на изолированном сердце лягушки. Сердце тонкой ниткой соединяется с пишущим рычагом—и на вращающемся барабане автоматически заносится кривая сокращений сердца. В отличие от сердца лягушки, сила сердечных сокращений кролика, кошки значительно больше и размах пишущего рычага сильнее.

Метод исследования изолированных сердец млекопитающих нашел себе широчайшее применение в науке. Особенно много исследований посвящено вопросу о действии на сердце различных лекарственных веществ и ядов.

Для того, чтобы, после установления нормальной работы сердца, испытать действие на него того или иного вещества,

применяется та же система двух склянок, что и при опытах с сердцем лягушки. Вторая склянка, содержащая раствор испытуемого лекарства и жидкости Рингер-Локка, соединяется с такой же бюреткой и змеевиком, как и первая. При смене пропускаемой чистой жидкости на раствор лекарства, струя кислорода, путем перемены зажимов, пускается во вторую бюретку, и, таким образом, испытуемая жидкость течет под тем же давлением, нагрета до той же температуры, так же насыщена кислородом, как и чистая жидкость, и все наступающие изменения в работе сердца должны быть отнесены лишь на влияние самого лекарства.

На изолированном сердце испытывается действие не только сердечных средств, а и других веществ, применяющихся в медицине, но имеющих побочное, иногда вредное, действие на сердце.

Пропуская через сердце вещество, ослабляющее его работу, можно значительно уменьшить силу сердечных сокращений и даже привести его к полной остановке. Но затем можно, переменяя ток жидкости и вновь пустив струю чистого Рингер-Локковского раствора, отмыть ткани сердца от яда и вновь пробудить к жизни остановившееся сердце; это показывает, что остановка сердца не является еще полной его смертью, и, владея условиями опыта, мы можем вновь вставить его биться.

Таким образом, на одном и том же сердце удается повторно испытывать действие различных лекарств и ядов и сравнивать между собою силу их действия.

В качестве примера на рисунке 4 приведены кривые, полученные на изолированном сердце кролика при действии на него растворенных в Локковской жидкости хлороформа и эфира. Из кривых видно, насколько хлороформ понижает деятельность сердца по сравнению с эфиром. Подобными опытами с несомненностью было установлено преимущество эфирного наркоза перед хлороформным в смысле менее вредного действия его на сердце.

На изолированном сердце могут быть произведены не только опыты с испытанием действия лекарств и ядов, но и чисто физиологические эксперименты. Продолжая свою жизнедеятельность вне организма, сердце сохраняет все свои физиологические особенности. Опыт убеждает нас, что жизнь изолированного сердца проявляется не только в сокращениях;

в нем продолжают те же химические процессы, которые присущи всякой живой протоплазме. Точными наблюдениями установлено, что изолированное сердце потребляет кислород и выделяет углекислоту, т.е. в его тканях происходят присущие всем живым тканям процессы дыхания. Исследованием оттекающей из сердца жидкости обнаружено, что часть содержащегося в жидкости Локка сахара расходуется сердцем, т.е. в сердце идут процессы питания.

Не только основные химические процессы, свойственные жизни, сохранены в переживающем сердце; оно служит источником и электрических явлений, какие обнаруживают все живые ткани. При всяком мышечном сокращении в мышечном волокне возникает разность потенциалов, являю-

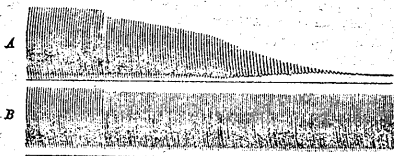


Рис. 4. Запись сокращений изолированного сердца кролика. А. При пропускании хлороформа в разведении 1:2.500. В. При пропускании эфира в разведении 1:2.500.

(Из «Основ фармакологии» проф. Н. П. Кравкова).

щаяся началом электрического тока (токи действия мышц). Токи действия даст в момент своего сокращения изолированное сердце совершенно так же, как и сердце при жизни организма. Токи эти могут быть уловлены чувствительным гальванометром и особым образом регистрированы в виде электрокардиограмм.

Экспериментами, произведенными на изолированных сердцах, доказано, что в изолированном сердце живы не только мышцы сердца, но и нервные элементы, в частности окончания сердечных нервов.

Сердце снабжают две пары нервов: пара так называемых блуждающих нервов и пара симпатических. Первые проводят импульсы, замедляющие ритм сердца, вторые являются

вовбуждающими, ускоряющими сердечную деятельность. Оказывается, что электрическое раздражение этих нервов вызывает и на изолированном, питаемом Локковской жидкостью, сердце тот же эффект, что и на сердце в целом организме.

Изолированное сердце проявляет чувствительность к всевозможным воздействиям. Оно чутко реагирует на перемену температуры пропускаемой жидкости. При пропускании раствора, подогретого выше температуры тела (40° , 41°), изолированное сердце начинает давать чрезвычайно частые сокращения; при более высоком перегревании начинается уже неправильная работа сердца. Наоборот, понижение температуры замедляет биение сердца и уменьшает силу отдельных сокращений.

Интересно, что изолированное сердце теплокровных и холоднокровных животных различно относится к температуре. В то время, как нормальная работа сердца кролика или кошки происходит при 38° С., сердце лягушки вовсе не бьется при этой температуре, а дает наиболее правильные сокращения при 15° С.

Сердца различных теплокровных также не одинаково переносят температурные изменения: изолированные сердца животных, имеющих зимнюю спячку (опыты на сердце ежа), продолжают сокращаться, несмотря на чрезвычайно низкую температуру питательной жидкости, и не останавливаются даже при $+1^{\circ}$ С., в то время как сердца остальных теплокровных при подобных температурах вовсе не сокращаются.

Все эти опыты с несомненностью доказывают, что изолированные сердца сохраняют те же жизненные свойства, которыми они обладают при жизни. Однако сердце, поставленное в искусственные условия, описанные выше, проявляет свою жизнедеятельность не беспредельно. Рано или поздно силы его истощаются, отдельные сокращения становятся слабее и слабее и, наконец, вовсе прекращаются.

Сердце кролика или кошки, изолированное по описанному способу, сокращается в течение 6—7 часов, а затем наступает ослабление его деятельности и остановка.

Несомненно, что питательная жидкость Локка не является совершенной и не может дать тканям сердца всего того, что требуется для длительной нормальной жизнедеятельности. Деятельность изолированного органа не есть полная жизнь его, а лишь переживание насчет тех сил и запасов, кото-

рые в нем заключались. Идеальная питательная жидкость — это сама кровь, и при первых попытках исследовать изолированные органы старались именно кровь применить для питания вырезанного органа.

Однако, на этом пути встретились значительные препятствия. Кровь, выпущенная из сосудистой системы, немедленно свертывается, и вместо жидкой крови оказывается сгусток, непригодный для пропускания через сосуды органа. При применении крови, как питательной жидкости для изолированного органа, необходимо избавиться от свертывания. Есть несколько способов получить несвертывающуюся кровь. Можно прибавлять к крови различные вещества, препятствующие ее свертыванию. Однако, прибавление этих веществ (напр. лимонно-кислый натр) оказывается далеко не безразличным не только для самой крови, но и для тканей изолированного органа, и подобная кровь не превосходит по качествам жидкость Локка и даже производит сама по себе ядовитое действие.

Из всех веществ, препятствующих свертыванию крови, наименее вредным для тканей является вещество, добываемое из пиявок, так называемый «гирудин»¹.

Однако, гирудин в тех концентрациях, в которых он не ядовит для тканей, не в состоянии вполне остановить процессы свертывания, и «гирудиновая» кровь также не может удовлетворить требованиям идеальной питательной жидкости.

Другой способ получения несвертывающейся крови — это ее «дефибрирование», которое производится следующим образом. Свеже-выпущенную кровь взбалтывают пучком лучинок или просто палочкой. Образующийся сгусток (состоящий, главным образом, из так наз. фибрина) оседает на палочке и может быть легко удален, а остающаяся жидкая часть, называемая дефибрированной кровью, идет на опыт. Дефибрированная кровь прежде широко употреблялась при исследовании изолированных органов и употребляется и теперь при некоторых исследованиях; она в состоянии поддерживать жизнедеятельность органов, в том числе и изолированного сердца, но имеет мало преимуществ перед Локков-

¹ Гирудин, находящийся в пиявках, дает им возможность, присавшись к коже животного, долго сосать кровь без того, чтобы она свертывалась.

ской жидкостью и, наоборот, быть может уступает последней по своим качествам, как жидкость, заменяющая кровь нормальную. Дело в том, что при свертывании крови вообще и при дефибриновании в частности образуются вещества, не безразличные для живых тканей, кровь приобретает некоторые ядовитые свойства, и питание ею вредно отражается на деятельности изолированного сердца. Особенно неблагоприятно может отзываться на деятельности изолированного органа питание чужеродной кровью, т.е. кровью животного, принадлежащего к иному виду, чем животное, от которого взят орган. Получение же достаточного количества крови от животного того же вида, с органом которого производится опыт, связано с большими расходами. Все это заставляет большинство исследователей при производстве опытов с изолированным сердцем и с другими изолированными органами предпочитать жидкость Рингер-Локка дефибринованной крови.

Однако, в виду того, что жидкость Рингер-Локка не является полной заменой нормальной крови, перед наукой стоит задача приблизить ее по качествам к этой естественной питательной жидкости. Были попытки прибавлять к питательному раствору форменные элементы крови: красные и белые шарики, полученные из нормальной крови путем ее центрифугирования. Однако, такое прибавление не улучшает заметно качества жидкости.

Существенное отличие Локковской жидкости от крови состоит в том, что она содержит лишь соли и сахар—вещества, принадлежащие к так назыв. кристаллоидам, т.е. к веществам, в твердом состоянии способным принимать форму кристаллов, а с водою дающим истинные растворы, в которых, как предполагают, отдельные частицы (молекулы) и их части «ионы» находятся в свободном состоянии.

В крови же имеются белковые вещества; белки, так же как и крахмал, клей, желатин, относятся не к кристаллоидам, а к коллоидам. В соединении с водою коллоиды не дают истинных растворов, молекулы их, повидному, или сравнительно очень велики, или группируются в более крупные частицы, и это обуславливает те особые физико-химические свойства, которые обнаруживают эти вещества. Дабы приблизить жидкость к свойствам крови, надо придать ей соответствующую «коллоидальность». С этой целью англий-

ский физиолог Бейлис (Bayliss, 1920) предложил прибавлять к жидкости Рингера гумми-арабик, а независимо от него, в России д-р Н. Н. Савицкий, в работе, опубликованной в 1921 г., доказывает пользу прибавления к Локковской жидкости желатины.

Все же и с прибавлением к питательным жидкостям коллоидальных веществ она далеко не имеет всех свойств крови. Кровь содержит целый ряд сложных по своему строению питательных веществ, необходимых для жизни тканей, а с другой стороны, благодаря непрерывной деятельности так назыв. «желез внутренней секреции», в кровь непрерывно поступают мало изученные вещества, известные под названием «гормонов», обладающие сильным влиянием на организм и его органы.

Когда удастся подвергнуть все эти вещества точному изучению и будут найдены способы их получать в чистом виде, тогда только откроется возможность создать искусственную питательную жидкость, по качествам своим приближающуюся к крови и способную поддерживать неопределенно долго жизнедеятельность тканей и органов, и таким образом создать истинную полную жизнь органа вне организма.

II.

Исследование сосудов изолированных органов.

Кровеносные сосуды, представляющие разветвленную по всему телу сосудистую систему, не являются простыми эластическими трубками, пассивно поддающимися волнам пробегающей от сердца крови. Сосуды, особенно артерии мелкого калибра, снабжены развитой мышечной стенкой, что дает им возможность сокращаться, значительно изменяя свой просвет. Игра сосудов, их сужение и расширение, имеет существенное значение как для общего, так и для местного кровообращения. При сокращении мелких артерий всего тела замедляется отток крови из артериального русла и при равной работе сердца кровяное артериальное давление повышается. С другой стороны, при деятельности какого-либо органа требуется усиленный приток к нему крови, который достигается расширением артерии данного органа. Таким образом,

сократительная способность артерий является важнейшим регулятором общего кровяного давления и распределения крови по организму.

Сужение и расширение сосудов данной области тела может произойти как под влиянием местного воздействия, так и вследствие соответствующих импульсов центральной нервной системы (сосудодвигательных центров).

Сосуды, как и сердце, находятся под влиянием нервных волокон, передающих сосудам импульсы мозговых сосудодвигательных центров. Мы часто наблюдаем покраснение и побледнение кожи, вызываемое расширением и сужением поверхностных сосудов, вследствие рефлекторных или психических влияний. Однако, с другой стороны, сосуды способны реагировать на местные воздействия: холод и тепло, как известно, вызывают на месте своего приложения сужение и расширение кровеносных сосудов. При оценке действия на кровообращение лекарств и ядов, существенно важно выяснить влияние его на просвет сосудов. При введении целого ряда лекарств происходит расширение сосудов, другие, наоборот, вызывают их сужение. Для точного анализа этого действия представляется необходимым установить: зависит ли сосудодвигательное действие данного вещества от его влияния на нервные центры, или оно обладает свойством воздействовать на самую стенку кровеносных сосудов? Точное выяснение этого вопроса легко удастся при помощи опытов на сосудах изолированных органов, когда совершенно исключено влияние центральной нервной системы.

При пропускании питательной жидкости через сосудистую систему какого-либо органа, кровеносные сосуды обнаруживают те жизненные свойства, которые им присущи и в целом организме. Мышечная стенка сосудов оказывается чрезвычайно жизнеспособной, будучи омываема теми изотоническими растворами, которые применяются ныне для оживления изолированных органов. При исследовании сосудов изолированных органов в прежнее время, так же как и в опытах с сердцем, применяли дефибрированную кровь, но предложенные затем растворы Рингера и Рингер-Локка оказались для поддержания жизнедеятельности сосудов вполне заменяющими дефибрированную кровь и даже превосходящими ее по своей безвредности. В настоящее время для поддержки жизнедеятельности сосудов холоднокровных употребляется обычно

тот же раствор Рингера, что и при опытах с сердцем лягушки, а для питания сосудов теплокровных применяется жидкость Рингер-Локка.

Основным способом исследования сосудов на изолированных органах является следующий: берется какой-либо орган (конечность, или один из внутренних органов), и в главную приводящую кровь артерию вставляется канюля; в наиболее крупную вену данного органа, через которую оттекает наибольшая масса крови, также вставляется канюля; остальные сосуды перевязываются. Артериальная канюля соединяется с прибором, доставляющим питательную жидкость, который описан в главе об изолированном сердце. Жидкость, пройдя по разветвлениям артерии и тончайшим капиллярам, собирается в вены и вытекает из венозной канюли.

Давление жидкости, поступающей в артерию, постоянно, и до тех пор, пока просвет сосудов остается неизменным, жидкость протекает через сосуды и вытекает из вены с постоянной скоростью. Для учета скорости истечения, жидкость, вытекающую из венозной канюли, собирают в измерительный цилиндр и отмечают количество ее, вытекающее за одну минуту. Как только происходит сужение сосудов, быстрота истечения падает, и в одну минуту вытекает значительно меньшее количество жидкости. Наоборот, при расширении сосудов жидкость течет быстрее, и количество оттекающей жидкости возрастает. Таким образом, по изменению в скорости оттекания жидкости можно точно судить о сужении и расширении сосудов изолированного органа под влиянием тех или иных причин.

По описанному методу обследованы сосуды различных органов и областей тела. Однако не все органы являются одинаково удобными объектами для изучения деятельности сосудов. Чем богаче орган рыхлыми тканями—с одной стороны, чем больше в нем мышц—с другой, тем многочисленнее осложнение при производстве опытов. Так как применяемые питательные растворы не обладают всеми физико-химическими качествами крови, то, при длительном пропускании их через сосудистую систему органа, ткани, особенно рыхлые ткани, начинают постепенно отекать, что затрудняет прохождение жидкости по сосудам. Обилие мышц в органе также вредит чистоте опыта, так как под влиянием пропускаемых ядов может

наступить их сокращение и повлиять на скорость протекания жидкости.

Отсюда ясно, что наиболее удобным для изучения сосудов будет такой орган, который беден рыхлыми тканями и не снабжен мышцами. У теплокровных одним из таких органов является ушная раковина.

Метод изолированного уха кролика для исследования его сосудов был предложен в 1912 году недавно скончавшимся крупнейшим русским фармакологом, проф. Н. П. Кравковым, и разработан его учеником д-ром С. А. Писемским.

Ухо кролика представляет из себя хрящевую пластинку, на которой лежит сеть сосудов. Рыхлой подкожной клетчатки в нем мало; мышц, если удалить основание уха, вовсе нет. Посреди уха идет снабжающая его артерия, переходящая в сеть мельчайших артерий и капилляров, собирающихся затем в несколько вен. Если смотреть на свет через ухо кролика (особенно белого), видна эта красивая сеть кровеносных сосудов.

Ухо, лучше всего, отрезать у живого кролика, предварительно, во избежание кровотечения, перевязав артерию у самого основания уха. Кролики вообще мало чувствительны к боли, и, если делать эту операцию острым ножом, можно обходиться без всякого наркоза.

Затем в артерию вставляют тончайшую стеклянную канюлю, укрепляют ухо на пятиугольную стеклянную пластинку (рис. 5) и соединяют канюлю при посредстве резиновой трубочки с мариоттовыми склянками, доставляющими жидкость Рингер-Локка под постоянным давлением. Жидкость наполняет артерию, проходит по капиллярной сети, собирается в вены и из их обрезанных концов вытекает на стеклянную пластинку.

С нижнего острого угла пластинки жидкость падает каплями; скорость истечения жидкости можно учесть, собирая ее в измерительный цилиндр или, еще проще, считая число капель, падающих в течение каждой минуты. Для облегчения счета служит чувствительный звонок, на который падают капли.

Опыт показал, что сосуды уха очень неприхотливы и долго сохраняют свою жизнеспособность, даже без того, чтобы жидкость была насыщена кислородом.

Нагревания жидкости тоже не требуется, так как ткани уха, и при жизни предоставленные влиянию различнейших температур, продолжают нормально функционировать при комнатной температуре питательной жидкости. Все это значительно упрощает методику.

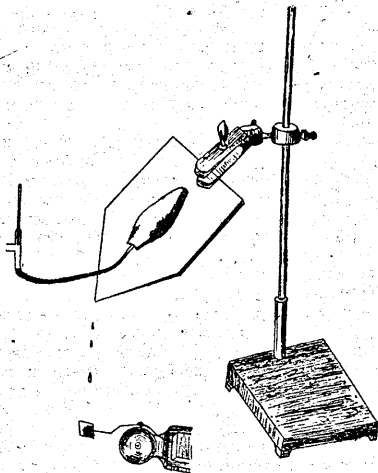


Рис. 5. Изолированное ухо кролика по способу Кравкова-Писемского.

На изолированном ухе кролика произведены многочисленные исследования, главным образом фармакологического характера.

При пропускании через сосуды уха различных лекарственных веществ обнаружилось, что многие из них обладают заметным сосудодвигательным действием. Некоторые из них суживают сосуды, и при их пропускании число капель, падающих с пластинки, значительно уменьшается. Другие ве-

щества, наоборот, расширяют сосуды и увеличивают количество оттекающей жидкости.

После испытания действия на сосуды раствора того или иного вещества, промыванием чистой жидкостью Локка можно вновь отмыть ткани уха от яда и вернуть сосудам их прежний просвет. Таким образом, на одном и том же ухе можно ставить последовательно целый ряд опытов с различными лекарствами и ядами; опыты можно производить много часов подряд, так как даже после очень длительного промывания жидкостью Рингер-Локка сосуды еще сохраняют живую реакцию на сосудодвигательные яды и тем проявляют свою жизне-способность.

На этом благодарном для исследования объекте произведено много изысканий, разрешивших ряд интересных фармакологических задач. Было изучено действие на сосуды лекарств в различных комбинациях и смесях; при длительном пропускании ядов исследовались различные стадии их действия, изучалось действие веществ на сосуды в зависимости от температурных условий и т. д.

Эти исследования имеют значение не только по вопросу о действии лекарств на сосуды, но являются материалом к разрешению основных задач фармакологии — выяснению законов действий ядов на живую протоплазму.

Чтобы придать полученным из опытов результатам наглядность и демонстративность, прибегают обычно к графическому их изображению в виде кривых, построенных на координатах.

На одной оси (абсциссе) отсчитывают время в минутах, на другой (ординате) — количество оттекающих в минуту капель. При таком нанесении кривой, расширению сосудов будет соответствовать подъем кривой, а сужению их — ее опускание.

На рис. 6 представлена кривая, изображающая опыт с пропусканьем через сосуды уха «адреналина» в разведении 1 : 10.000.000 Адреналин — могущественнейшее сосудосуживающее средство. Сильнейшее сужение сосудов под влиянием столь малых концентраций адреналина зависит от его возбуждающего действия на окончания нервов (симпатических), которые являются сосудосуживающими нервами.

Адреналин не представляет из себя вещество, чуждое животному организму. Он вырабатывается в самом орга-

низме и является продуктом надпочечных желез, которые выделяют его в кровь (внутренняя секреция). Реакция на это естественное сосудосуживающее вещество является лучшим показателем жизнеспособности сосудистой стенки изолированного органа.

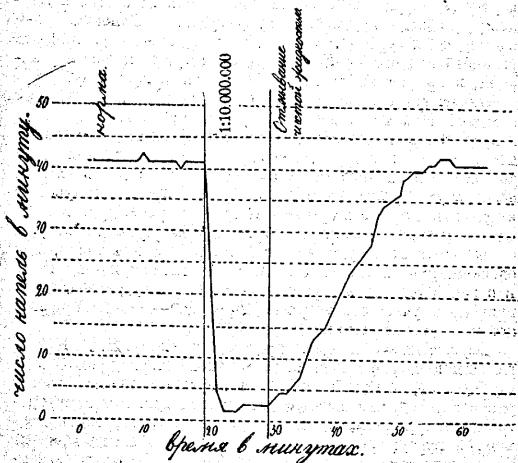


Рис. 6. Графическое изображение действия адреналина в разведении 1:10.000.000 на просвет сосудов изолированного уха кролика (объяснения в тексте).

Исследования проф. Н. П. Кравкова показали, что сосуды изолированного уха отвечают не только на пропускание через них тех или иных сосудодвигательных ядов. Им открыт интереснейший факт, что, при нанесении на кожу изолированного уха раздражающих веществ (йод, кротонное масло и др.), сосуды дают определенную реакцию, расширяясь так же, как расширяются сосуды живых тканей при намазы-

вании поверхности кожи воспаляющим веществом при жизни. Таким образом, на отрезанном ухе как бы сохраняется кожная чувствительность.

Наконец, сосуды уха проявляют чрезвычайную чувствительность к изменениям температуры. При повышении температуры окружающей среды или самой питательной жидкости, происходит расширение сосудов, при понижении—наступает их сужение. Однако, сравнительно скоро вслед за реакцией происходит приспособление сосудов к новым условиям, и просвет их вновь приближается к прежнему.

Опыты над сосудами изолированного уха по описанной методике дали много ценных результатов; все же надо иметь в виду, что по изменению скорости истечения жидкости из вен можно судить лишь об общем изменении просвета всей сосудистой сети и нельзя непосредственно сделать вывод, поскольку различные отделы этой сети принимают участие в сужении или расширении. Когда наступает уменьшение числа падающих капель, ясно, что просвет сузился, но участвуют ли в этом сужении лишь артериальные веточки, или одновременно активно сокращаются капилляры и вены, и в какой степени эти различные отделы сосудистой системы принимают участие в полученной реакции—остается при этой методике невыясненным.

Видоизменение методики, предложенное проф. Н. П. Краковым и разработанное под его руководством д-ром Соловейчиком, и дает возможность изучить сократительность ушной артерии, независимо от капилляров и вен. При этом видоизменении ухо располагается на стеклянной пластинке верхушкой книзу; конец уха обрезаются с таким расчетом, чтобы была надрезана центральная артерия, а вены перевязываются, дабы в них не проникала жидкость через боковые артериальные веточки. При такой установке жидкость, поступающая в артерию, вытекает из ее обрезанного конца, не попадая в капилляры и вены, и на скорости ее протекания отражаются лишь изменения в просвете артерии.

Подобная методика дала возможность с особой отчетливостью наблюдать за сокращениями артериальной стенки, и при этом обнаружилась особая игра ее, так называемый самостоятельный ритмив артерий. Оказалось, что при длительном пропускании адреналина, о котором была речь выше, вслед за первоначальным сужением происходит расслабление

артериальной стѣнки, но оно длится всего нѣсколько минут, чтобы вновь дать сильнейшее сужение. Сужение затем вновь сменяется расширением. Смена сужения и расширения происходит через правильные промежутки времени и длится много часов подряд, слагаясь в правильные ритмические волны. Иногда этот ритмизм удастся видеть и без применения каких-либо веществ, а при пропускании чистой жидкости Локка, но несомненно, что он усиливается от прибавления целого ряда сосудодвигательных лекарств.

Надо полагать, что подобная ритмическая деятельность артерий играет важнейшую роль в кровоснабжении органов и тканей.

Иное видоизменение методики, предложенное автором настоящего очерка, позволяет изучать сократительную способность вен изолированного уха кролика, независимо от артерий и капилляров. С этой целью канюля вставляется в наиболее крупную из вен (краевую) у верхушки уха по направлению к основанию, т.е. по направлению тока крови в вене; остальные вены и артерия перевязываются. Питательная жидкость, под значительно меньшим давлением, чем в опыте с артериями, поступает непосредственно в вену у верхушки уха и вытекает из ее обрезанного конца у основания уха. Ток жидкости происходит только по одной вене, и все колебания в скорости протекания жидкости мы должны при такой установке отнести к изменениям в просвете вены.

Опыты, произведенные по описанному методу, показали, что вены уха способны к активному сокращению при пропускании сосудодвигательных ядов, однако степень сокращения вен гораздо меньше, чем сокращения артерий под влиянием тех же веществ. Вены отвечают также на температурные изменения и раздражение кожи, но значительно слабее, чем артерии.

Здесь нет возможности подробно останавливаться на опытах с сосудами других органов, имеющими однако большой интерес для теоретической медицины. Все эти опыты поставлены по одному и тому же плану, и многочисленными исследованиями подобного рода подробно выяснены отношения к сосудодвигательным лекарствам и иные физиологические особенности кровеносных сосудов различных областей животного тела.

Переживание гладкомышечных органов.

Промывая питательной жидкостью сосуды какого-либо изолированного органа, мы можем наблюдать жизнедеятельность не только самой сосудистой стенки, но и всего органа, с которым производится опыт.

Через посредство капиллярной сети все ткани данного органа орошаются питательной жидкостью совершенно так же, как при жизни они орошаются кровью, и поскольку искусственный изотонический раствор в состоянии заменить нормальную кровь, постольку в изолированном органе будут происходить те жизненные процессы, которые ему присущи.

Однако различные органы не одинаково переносят те искусственные условия, которые создаются при опыте.

Изолированные органы низших животных живут дольше и удовлетворяются менее сложным составом жидкости, чем органы высших позвоночных, что мы уже видели при сравнении сердца лягушки и кролика.

Значительная разница в способности к переживанию проявляется также между различными органами одного и того же животного. Чем примитивнее по своему строению и своей функции ткани данного органа, тем лучше удастся сохранить его жизнедеятельность в условиях опыта; наоборот, органы с высоко развитыми тканями, обладающие сложной структурой и деятельностью, представляют для изоляции неблагоприятный материал.

По стойкости своей и жизнеспособности в условиях питания искусственными растворами, равно как и в смысле наблюдения за их деятельностью, на одном из первых мест стоят органы, построенные из так называемых гладких мышц. К таким органам относятся: матка, желудок, кишечник, мочевой пузырь, т.-е. те органы, которые обладают сократительной способностью, независимо от нашей воли.

Петли кишечника кролика или кошки, при пропускании через их сосуды питательной жидкости, продолжают давать волнообразные сокращения (перистальтика), передвигающие пищевые массы. Изолированная беременная матка также дает медленные схваткообразные сокращения, и даже, если

матка вырезана в последних стадиях беременности, на глазах наблюдателя может произойти удаление плода из матки (Курдиновский, 1903).

Исследованиями над различными гладкомышечными органами установлено, что для продолжения сократительной деятельности гладких мышц не является обязательным устанавливать циркуляцию питательной жидкости по сосудистой системе данного органа. Оказывается, что достаточно погрузить кусочки органа в нагретый и снабженный кислородом раствор ¹ (или, если весь орган имеет малый размер, поместить его в тот же раствор целиком, не разрезая), и сокращения гладкой мускулатуры продолжают совершаться в течение многих часов.

Таким образом наблюдаются сокращения желудка лягушки, кусочков желудка теплокровных, отрезков кишечника, червеобразного отростка, вырезанного при операции, вырезок из матки и мочевого пузыря. При помощи этой методики можно изучать сократительную деятельность и более мелких гладкомышечных образований — гладкую мускулатуру бронхов, мочеточников и артерий, вырезая из них полоски и растягивая эти полоски в ванночке с питательной жидкостью. — По этой простой методике произведено много исследований над гладкомышечными органами и их частями.

Сюда нужно отнести опыты над вырезанным глазом лягушки, жизнедеятельность которого проявляется в сокращении и расширении зрачка, снабженного гладкими мышцами. Если вырезать глаз из орбиты усыпленной лягушки и положить его в физиологический раствор соли, зрачок такого глаза сохраняет способность реагировать на свет. При ярком освещении он суживается, постепенно доходя до размеров точки. Наоборот, в темноте зрачок вырезанного глаза лягушки максимально расширяется. (Подобный опыт с глазом теплокровных невозможен, так как сужение зрачка его вызывается рефлексом, идущим через головной мозг).

На рис. 7 показана установка аппаратуры для регистрации сокращений отрезка кишечной петли. Впервые

¹ Для поддержания жизнедеятельности гладкомышечных органов применяется жидкость более сложная по составу, чем обычный раствор Рингера, так называемая жидкость Тирода, содержащая: на один литр дистиллированной воды — NaCl — 8,0; KCl — 0,2; CaCl₂ — 0,2; MgCl₂ — 0,1; NaH₂PO₄ — 0,05; NaHCO₃ — 0,1.

подобного рода опыты были поставлены над кишкой кошки немецким фармакологом Магнусом (Magnus, 1904). У убитой при помощи кровопускания кошки вырезывается небольшой участок тонкой кишки, длиной в 5—7 сантиметров; взятый отрезок тщательно прополаскивается в теплом питательном

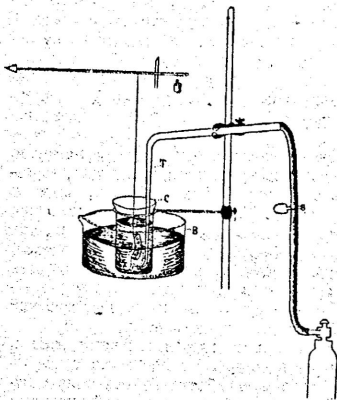


Рис. 7. Изолированный отрезок кишки кошки по способу Магнуса (Объяснения в тексте).

растворе и затем устанавливается в стаканчике (с), содержащем 150—200 куб. сант. того же раствора. Для постоянного поддержания температуры на уровне температуры тела, стаканчик ставится в подогреваемую водную ванну (В). Через раствор пропускается кислород, идущий из специального резервуара через трубку (Т). Чтобы получить сильные сокращения кишки и удобно их регистрировать, один конец отрезка закрепляется ниткой у дна стаканчика (можно для

прикрепления пользоваться концом той же трубки, по которой идет кислород, загнув ее в виде крючка), а от другого конца протянуть нитку к пишущему рычагу, оттягиваемому грузиком.

При подобной простой установке кусочек кишки совершает те характерные сокращения, которые свойственны кишечнику. Эти сокращения протекают значительно медленнее, чем биения сердца, ритмы их не обладают абсолютной правильностью, сокращения становятся временами сильнее, временами слабее, образуя как бы волны и наслаиваясь друг на друга.

Однако, в этой работе все же наблюдается известная закономерность, и можно ясно определить изменения характера работы при действии на изолированный отрезок кишечника различных лекарственных веществ. При этом изолированный кишечник проявляет не меньшую чувствительность к ядам, чем изолированное сердце и сосуды.

Пользуясь описанной методикой, можно наблюдать сокращения не только целого отрезка кишечника, представляющего небольшой длины кишечную трубку, а даже и сокращения маленькой полоски, вырезанной из кишечной стенки; мало того, способность к самостоятельным сокращениям сохраняется, если отделить наружный слой продольной кишечной мускулатуры от внутреннего кругового и растягивать в стаканчике с жидкостью полоски из этих мышечных слоев. Применяя маленькие полоски, шириною в полсантиметра, в сантиметр, а длиною в четыре, пять сантиметров, можно уменьшить также и размер стаканчика, в который помещается кусочек, и погружать его в небольшой цилиндр, содержащий лишь 10—15 кубиков питательного раствора. Работа с таким малым количеством жидкости имеет значение для целей особого рода.

Изолированный кишечник, как и другие изолированные органы, проявляет чувствительность не только к фармакологическим лекарствам и ядам, а и к веществам, вырабатываемым в самом организме—к гормонам, и даже к этим естественным возбудителям органов проявляется со стороны изолированных тканей, быть может, большая чувствительность, чем к чуждым им лекарственным веществам. Современная физиология учит, что гормоны, являющиеся продуктами так наз. желез внутренней секреции, играют важнейшую роль в жизни всего организма, возбуждая и регулируя деятельность различных органов и тканей. Удаление или недостаточность деятельности (гипофункция) какой-либо из желез внутренней секреции ведет за собой уменьшение в крови количества соответствующих гормонов и вызывает глубокие болезненные явления. Чрезмерная деятельность (гиперфункция) желез внутренней секреции и чрезмерное накопление в крови какого-либо гормона также дают определенную картину болезни с симптомами, противоположными тем, которые наблюдались при недостаточности той же железы. Современная научная медицина многие заболевания, оставшиеся до

последнего времени загадочными, объясняет расстройством внутренней секреции. Из сказанного понятно, какой большой интерес представляет вопрос об определении в крови различных гормонов.

Химические реакции не могут служить для этой цели, так как для большинства гормонов химическая структура их даже приблизительно неизвестна, а, кроме того, абсолютное количество гормонов в крови так ничтожно, что трудно рассчитывать найти химический реактив соответственной чувствительности. Живая протоплазма проявляет значительно более высокую чувствительность, чем все известные нам химические способы определения, и ткани животного реагируют на присутствие в крови специфически действующих гормонов в тех их концентрациях, какие вряд ли могут быть обнаружены химически.

Изолированные органы, как было выше указано, сохраняют чувствительность к ядам, которая им присуща при жизни; то же имеет место и по отношению к гормонам. Таким образом, в изолированных органах мы имеем приборы, пригодные для обнаружения действующих на ткани организма веществ,—приборы, по своей чувствительности превосходящие все химические реактивы.

Методика изолированных органов была неоднократно использована для обнаружения в крови специфически действующих гормонов. Наиболее пригодной для подобных проб является такая установка, при которой можно, взяв для испытания сравнительно небольшое количество крови, испытывать ее действие, не разводя ее, или мало разводя питательным раствором, омывающим изолированный орган, дабы большим разведением не уменьшить концентрацию находящихся в ней веществ.

Эти условия легко соблюсти при описанной выше методике, когда полоска, взятая из кишечника, погружена в небольшой стаканчик с питательным раствором. Кишечник чутко реагирует на присутствие в омывающей жидкости различных действующих веществ. Некоторые гормоны действуют на кишечник настолько характерно, что по кривой, записанной сокращениями кишечника, можно судить о присутствии их в испытуемой жидкости. К таким гормонам относятся адреналин, о котором упомянуто выше. Уже в самых ничтожных разведениях, начиная с 1:100.000.000, он производит

задержку и даже кратковременную остановку сокращений изолированного кишечника. Проба крови на полоске кишечника считается одной из наиболее удобных проб для определения адреналина в крови. При этом способе питательную жидкость, в которой находится полоска кишечника, заменяет испытуемая кровь. Эта методика применена американским физиологом Кенноном (Cannon, 1910) при исследовании у собак выделения в кровь надпочечными железами адреналина при различных физиологических условиях. Между прочим, при помощи этой методики им доказано на собаках усиленное выделение в кровь адреналина при нервном возбуждении. Собаку дразнили, показывая ей кошку, собака приходила в ярость, а взятая в тот момент у нее кровь давала на кусочке кишки леную реакцию на адреналин. Усиленное образование адреналина при возбуждении имеет особое значение, так как этот гормон усиливает работу сердца, подымает, суживая сосуды, кровяное давление, устраняет утомление мышц, т. е. увеличивает силы организма в тот момент, когда во время психического возбуждения (гнев, страх) они особенно нужны животному.

Вслед за Кенноном тем же способом неоднократно пользовались другие исследователи.

Затруднение при такого рода опытах заключается в том, что кровь, свертываясь, образует какие-то сильно действующие вещества, и для того, чтобы кровь, содержащая избыток адреналина, действовала на кишечник характерным для адреналина образом, необходимо избежать свертывания. Как раньше уже было сказано, это лучше всего достигается прибавлением к крови гирудина (добываемого из пиявок).

Однако, описанная методика в чистом своем виде применима только по отношению к крови экспериментальных животных, у которых мы можем брать быстро кровь посредством вставленных в сосуды широких канюль и немедленно смешивать ее с гирудином; если же нам нужно взять для испытания кровь человека, приходится применять тонкие иглы, через которые кровь вытекает сравнительно медленно и, не успевая достаточно быстро смешиваться с гирудином, меняет свои свойства, приобретает некоторые особенности свертывающейся крови и влияет сама по себе возбуждающим образом на кишечник. Это обстоятельство затемняет картину действия тех гормонов, присутствие которых должно было

быть обнаружено опытом. Все же и при таких условиях, как показали опыты д-ра Орнатского, произведенные в лаборатории проф. А. А. Лихачева в 1924 году, можно обнаружить присутствие того же адреналина в крови и определить его избыток у людей при известных заболеваниях.

Метод изолированных органов оказал большую службу при определении в крови наиболее изученного гормона—адреналина. Не подлежит сомнению, что та же методика окажется столь же применимой для обнаружения в крови и других гормонов.

На приведенных примерах с адреналином мы видим, что изолированным кишечником пользуются, как прибором, для определения гормона в крови как у животных при физиологических экспериментах, так и у людей при болезнях, связанных с изменением внутренней секреции, и методика изолированных органов в данном случае служит равно как для физиологических, так и для клинических целей.

IV.

Искусственное питание мозга.

Центральная нервная система животного—головной, продолговатый и спинной мозг его—состоит из наиболее нежной и чувствительной ко всяким воздействиям ткани. Нервные клетки мозга являются высшей ступенью развития и дифференциации животной клетки. Являясь элементами нервных центров, они своей способностью воспринимать малейшие раздражения, приходящие к ним с периферии по нервным волокнам, способностью суммировать и передавать эти раздражения другим клеткам—обуславливают сложную и богатую деятельность мозга, управляющую всем организмом.

На-ряду с чувствительностью к физиологическим раздражениям клетки центральной нервной системы проявляют также высокую чувствительность ко всяким вредным воздействиям и неблагоприятным для жизненных процессов условиям.

Достаточно указать на ту реакцию со стороны мозга, которая немедленно наступает при ослаблении притока к мозгу снабженной кислородом крови. Незначительное сужение сосудов мозга, уменьшающее его кровоснабжение, вызывает

потерю сознания—обморок. То же немедленно наступает при сжатии несущих кровь к голове сонных артерий.

Понятно, что по степени стойкости в условиях искусственного питания жидкостями, заменяющими кровь, мозг занимает одно из последних, если не последнее место в ряду других органов и является полной противоположностью органам гладкомышечным.

Однако, мысль создать искусственное питание мозга и изучать при этих условиях функцию нервных центров и таким образом произвести эксперименты на изолированной голове, или с искусственно орошаемым спинным мозгом, неоднократно привлекала исследователей.

Несомненно, скорее можно было рассчитывать на получение благоприятных результатов при опытах с низшими представителями позвоночных животных, с рыбами и земноводными. Русский физиолог, проф. А. А. Кулябко, был первым, которому удалось показать возможность поддержать жизнедеятельность мозга у рыб при пропускании по сосудам головы жидкости Рингер-Локка. Опыты свои он производил главным образом на миногах. Отрезанный головной конец миноги, лишенный, стало быть, вполне циркуляции крови, не умирает немедленно. Можно заметить, что на нем продолжают дыхательные движения стенок жаберной полости, что с несомненностью свидетельствует о продолжающейся жизнедеятельности мозговых центров, заведующих дыханием (центры дыхания).

Однако, на обескровленной голове миноги эти дыхания длятся всего несколько минут и затем прекращаются; если же в этот момент, как доказал проф. Кулябко, направить к мозгу по сосудам головы ток Рингер-Локковской жидкости, центр дыхания вновь оживает, дыхательные движения восстанавливаются и могут продолжаться в течение 2-х, 3-х часов.

Тот же опыт удался проф. Кулябко на рыбах, принадлежащих к другим классам (стерлядь, окунь).

Опыты эти с несомненностью доказывают возможность поддержания жизнедеятельности клеток центральной нервной системы при питании их искусственными питательными жидкостями.

Подобные же попытки искусственного питания центральной нервной системы были произведены и с другими позвоночными, но чем выше по зоологической лестнице стоит вид,

к которому принадлежит внятое для опыта животное, чем выше организация центральной нервной системы, тем труднее удастся получить признаки жизни его изолированного мозга.

Если через соответствующие сосуды установить циркуляцию Рипгер-Локковской жидкости в головном и спинном мозгу лягушки, то, по мере замены крови соевым раствором, жизнь мозга замирает, всякие движения и рефлексы у лягушки пропадают, и через несколько минут лягушка представляется совершенно парализованной, что свидетельствует о наступившем параличе всей центральной нервной системы.

Если при наступлении полного паралича лягушки, приблизительно через полчаса после начала промывания мозга жидкостью Локка, к пропускаемой жидкости прибавить сильно возбуждающий нервные центры яд—стрихнин, у до того времени неподвижной и расслабленной лягушки произойдут сильные общие судороги, зависящие от действия стрихнина на спинной мозг (опыты автора). Этим способом выявляется та способность к жизни нервных центров, которая сохраняется при искусственном питании в мозгу лягушки, жизнедеятельность которого, следовательно, при этом не вполне уничтожена, а лишь сильно подавлена.

Из этих опытов мы видим, что у лягушки обычная питательная жидкость не в состоянии заменить кровь для питания центральной нервной системы, но все же полного прекращения жизнедеятельности мозга—немедленной смерти нервных клеток—при такой замене не наступает.

Опыты с мозгом теплокровных животных (кролики, кошки, собаки) дали еще менее удовлетворительные результаты.

При пропускании обычной жидкости Локка через сосуды мозга названных животных, немедленно происходит чрезвычайное возбуждение нервных центров (судороги), а непосредственно затем смерть. Явления эти наступают более бурно и быстро, чем при простом обескровливании животного, и Локковская жидкость, следовательно, не только не может заменить кровь для питания мозга высших животных, но даже оказывает на него вредное действие.

В этом случае особенно ярко сказывается несовершенство применяемых для изолированных органов питательных жидкостей.

Перед современной наукой стоит задача изменить таким образом состав жидкости, чтобы она удовлетворяла требованиям наиболее высоко организованных тканей, к которым относится мозг теплокровных.

V.

Изолированные органы внутренней секреции.

В предыдущих главах мы рассматривали главным образом проявления жизнедеятельности изолированных органов, которые выражаются в сокращении или движении. Как уже было отмечено, жизненные процессы искусственно орошаемых органов сопровождаются и иными явлениями, присущими всякой живой ткани.

В переживающих тканях совершается ряд химических процессов, которые отражаются на составе оттекающей жидкости. В ней уменьшается количество сахара и нарастает углекислота в ущерб количеству кислорода.

Эти окислительные процессы, свойственные всякой живой протоплазме, происходят во всех переживающих изолированных органах.

В тканях некоторых органов, кроме того, происходят химические процессы, присущие только данному органу.

Примером такого органа может служить печень. В клетках печени слагаются запасы питательного материала в виде гликогена (нерастворимый углевод). Гликоген переходит в виноградный сахар, который постепенно поступает из печени в кровь. Опыты с изолированной печенью показывают, что образование сахара из гликогена продолжается и на изолированной печени, и жидкость, протекающая через ее сосуды, становится богаче сахаром.

Отсюда видно, что, исследуя и сравнивая состав притекающей и оттекающей из вырезанного органа жидкости, можно наблюдать за химической функцией данного органа.

Исследование оттекающей от изолированного органа питательной жидкости обещает привести ценные результаты для изучения желез внутренней секреции.

Железы внутренней секреции, о которых упоминалось уже и выше, отличаются тем, что они не имеют, подобно обычным железам, выводных протоков, по которым выбрасывается из

железы ее продукт — секрет. Накапливающийся в тканях этих желез секрет всасывается в кровь, происходит таким образом выделение его не наружу, а внутрь организма, почему подобные железы и называются железами внутренней секреции.

К ним относятся надпочечные железы, щитовидная, околотитовидные, вилочковая и др.

Внутренняя секреция может совмещаться с обычным видом секреции; поджелудочная железа, кроме продуктов, выделяемых через выводные протоки в кишечник, отдает особые вещества в кровь, обладая — наряду с внешней — и внутренней секрецией. Половые железы, как мужские, так и женские, имеют резко выраженную внутреннюю секрецию.

В самое последнее время проф. Н. П. Кравковым и его сотрудниками произведен целый ряд исследований над изолированными органами внутренней секреции (надпочечники, щитовидная железа, поджелудочная и семенники). При этом жидкость Рингер-Локка пропускалась через сосуды желез тем же образом, как это производится обычно при изучении деятельности других изолированных органов. Оттекающая из вен жидкость собиралась и исследовалась на содержание в ней гормонов. Оказалось, что при этих условиях железы внутренней секреции продолжают отдавать в протекающую жидкость характерные для них вещества. Собранный из вен раствор испытывался на другие изолированные органы (сердце, сосуды) и он производил на них то действие, которое на эти органы оказывает соответствующий гормон.

В настоящее время исследованиями, произведенными в лаборатории Н. П. Кравкова, наиболее подробно изучена функция изолированного надпочечника (работы Шкаверы и Кузнецова, М. П. Николаева). Вытекающая из вен железы Локковская жидкость (так наз. надпочечниковая жидкость) исследовалась затем на сосудах ушей и на изолированном сердце — и обнаружила резкое действие, сходное с действием адреналина. Адреналиноподобные вещества, находящиеся в надпочечниковой жидкости, согласно этим исследованиям, обнаруживают большую стойкость по сравнению с самим адреналином.

Было изучено также влияние некоторых ядов на деятельность надпочечных желез. Оказалось, что многие яды, например табачный яд, никотин, усиливают выделительную функцию изолированных надпочечников.

Исследование желез внутренней секреции по методу изолированных органов дает все преимущества данного метода для решения вопросов этой интереснейшей области.

С другой стороны, при этом представляется возможность добывать гормоны из желез, получая их в Локковской жидкости.

При обычных способах добывания гормонов, действующие начала желез внутренней секреции получают из них путем так наз. экстрагирования, т.е. настаивания измельченной их ткани в различных растворителях. При этом, кроме гормонов, целый ряд продуктов распада переходит в экстракт. Так как Локковский раствор не является идеальной, вполне заменяющей кровь, питательной жидкостью, и ткани изолированных органов, омываемых ею, постепенно гибнут, то и при промывании изолированных желез внутренней секреции мы также не можем иметь уверенности, что выделяющиеся в жидкость вещества являются теми чистыми гормонами, которые поступают в кровь в нормальных условиях; но несомненно, что полученные при этом способе продукты значительно чище и ближе к естественным, чем экстракты из тех же желез. Применение метода изолированных органов к изучению деятельности желез внутренней секреции является одним из самых блестящих достижений проф. Н. П. Кравкова, которому, как видят читатели, наука обязана рядом крупных трудов в области исследования изолированных органов вообще. Безвременная кончина этого выдающегося ученого прервала его работу в самом разгаре, но надо надеяться, что его открытия получат дальнейшее развитие в работах его учеников.

VI.

Изолированные органы человека.

I. «Оживление» органов.

Организм человека, его физиология, функции отдельных органов не представляют коренных отличий от других высших представителей животного царства, от млекопитающих, к которым принадлежит человек по зоологической классификации. Потому нет ничего удивительного в том, что органы

человеческого тела способны, как органы других млекопитающих, к переживанию вне организма. Однако опыты над изолированными органами человека встречают значительные затруднения при своей постановке.

Как явствует из предыдущего изложения, для исследования изолированных органов животных пользуются органами здоровых животных, вырезанными непосредственно после их умерщвления, или даже взятыми у живых усыпленных животных.

Такие органы в момент их изоляции имеют все жизненные свойства нормальных органов, обладают полным запасом жизненных сил. Их не истощило пагубное влияние болезни, не коснулись посмертные процессы разложения.

Понятно, что получить для экспериментов человеческие органы с соблюдением тех же условий невозможно.

Органы человека, за исключением частей, иногда удаляемых при операциях, могут быть взяты только от трупа, и первым является вопрос о том, возможна ли жизнедеятельность органов, взятых у животных или людей спустя известное время после смерти и поставленных затем в условия искусственного питания, возможно ли так называемое «оживление» органов. Для тех органов высших животных, которые вообще способны к переживанию, будучи орошаемы питательными жидкостями, такое «оживление» представляется возможным. Оказывается, что органы убитых животных сравнительно долгое время сохраняют жизнеспособность, жизнь их как бы замирает, и вслед за установлением в их сосудах искусственной циркуляции—вновь возвращается их жизнедеятельность.

Некоторые органы сохраняют возможность «оживления» поразительно долго. Сокращения сердца кролика могут быть получены путем промывания его жидкостью Локка на следующий день после вырезания сердца. Опытами самого Локка (1905 г.) установлено, что при хранении вырезанного сердца на холоду (от 0° до 4° С.) возможные сроки его оживления значительно удлиняются, и удается получить его сокращения на второй и даже на третий день после того, как оно взято у кролика и пролежало без признаков жизни в охлаждаемой льдом камере. Это показывает, что видимое прекращение жизнедеятельности сердца не есть еще наступление невозвратной смерти. Истинная смерть наступает с теми процес-

сама разложения и гниения, которые разрушают протоплазму. Если эти разрушительные процессы не успели вступить в свои права, если они задержаны холодом, — жизнь вновь может пробудиться в тканях, когда благодаря циркуляции питательной жидкости создаются необходимые для жизненных процессов условия.

То же самое относится не только к сердцу, а и к другим изолированным органам. Сосуды в состоянии сохранять свою жизнеспособность еще значительно дольше, чем сердце. Отрезанное ухо кролика, положенное на холод, может сохранить сократительность своих сосудов в течение двух недель и через этот срок давать значительное сужение при пропускании через них адреналина, чем и выявляется жизнедеятельность сосудов. При более длительном хранении способность к сокращению и, стало быть, жизнеспособность сосудов значительно падает, но некоторая, хотя и слабая, реакция на пропускаемые сосудодвигательные яды, как бы следы жизни остаются у сосудов кроличьих ушей, сохраняемых на холоду в течение двух—трех месяцев.

Все эти факты относятся к «оживлению» изолированных органов животных в различные сроки после их удаления из организма здорового, не истощенного болезнью животного. При исследовании органов, взятых у трупов людей, мы встречаемся с особыми условиями. Только в редких случаях человек умирает, будучи совершенно здоровым, погибая насильственной смертью от случайных причин (несчастный случай, убийство). Получение таких органов для научных экспериментов затрудняется еще тем, что трупы при таких обстоятельствах подлежат обычно особому судебно-медицинскому исследованию. В большинстве же мы встречаемся со смертью после более или менее продолжительной болезни, которая истощает жизненные силы организма.

Является вопрос: возможно ли оживление органов людей, погибших от различных болезней?

2. Изолированное сердце человека.

Оживление изолированного человеческого сердца впервые было произведено русским физиологом проф. А. А. Кулябко (1902 г.). Он вырезал сердце из трупа трехмесячного, умершего от воспаления легких младенца, через 20 часов после

смерти. После промывания в течение 20 минут сосудов сердца жидкостью Локка, по способу Лаугендорфа, описанному выше, оно стало сокращаться. Биения сердца продолжались более часа и были настолько сильны, что могли быть записаны автоматически, в виде кривой.

Такой же эксперимент удался проф. Кулябко и с несколькими другими детскими сердцами.

Опыты проф. Кулябко, доставившие нашему соотечественнику мировую известность, повели за собой ряд подобных же опыток со стороны различных исследователей.

Немецкий физиолог Херинг (Hering, 1905) получил сокращения сердца взрослого 35-тилетнего человека через одиннадцать часов после смерти. Большое исследование посвящено было изолированным человеческим сердцам итальянцем Цезарем Демелем (Cesaris Demel, 1911), при чем во многих случаях ему удавалось наблюдать сокращения сердец, вырезанных у трупов людей, погибших от различных болезней. Подобные наблюдения над сердцами детей и взрослых проводились и в России (Завадский, 1921 г., С. В. Аничков, 1923 г.).

Все эти опыты с несомненностью говорят за то, что в момент смерти сердце далеко не во всех случаях является утратившим свою жизнеспособность. Смерть организма является прекращением существования его, как целого, вследствие гибели каких-либо важнейших частей его. Во многих случаях смерть при различных болезнях наступает при явлениях паралича необходимых для жизни организма центров продолговатого мозга (дыхательный центр и др.). Паралич дыхательного центра обуславливает остановку дыхания; в крови накапливается углекислота, кровь беднеет кислородом, и сердце, лишённое притока артериальной крови, перестает работать, хотя хранит в себе запас живых сил. Остановку сердца, кроме накопления углекислоты, может вызвать накопление и других ядовитых веществ, появляющихся в крови при данной болезни.

Если мы, вскоре после смерти человека, вырежем остановившееся сердце и создадим в его сосудах циркуляцию Локковской жидкости, насыщенной кислородом, — из тканей сердца удалятся ядовитые продукты, оно получит необходимый для своей жизнедеятельности кислород, и в том случае, когда налицо нет глубоких болезненных изменений самой мышцы сердца, можно наблюдать его «оживление».

Как показали работы некоторых исследователей (С. П. Заводский), всего легче удается получить сокращення изолированного сердца новорожденных детей или недоношенных плодов. Вполне удовлетворительно сокращаются сердца грудных детей (Кулябко). Эти малые по своим размерам сердца устанавливаются в приборе совершенно по той же методике, как и сердце кроликов, и записанные теми и другими сердцами «кривые» чрезвычайно сходны.

Сокращения изолированных сердец взрослых редко представляются равными, по полноте и силе, сокращениям прижизненным. Лучше других бьются сердца суб'ектов, погибших не вследствие болезни, а от случайных причин (раны, повреждения). Очевидно, сердца взрослых обладают меньшим запасом жизненных сил, и аппарат их труднее приспособляется к создаваемым искусственным условиям. Кроме того, сердце взрослого человека, вследствие сравнительно большего своего размера, представляет некоторые затруднения для экспериментирования, по сравнению с небольшими сердцами детей и мелких животных. Метод вставления (по Лаугендорфу) канюли в аорту является для таких сердец неудобным, и канюли, приводящие жидкость, вставляют непосредственно в венозные артерии.

Для ограждения сердец от охлаждения приходится прибегать к помещению их в термостат.

На изолированных сердцах человека оказалось возможным не только наблюдать за их сократительной деятельностью, но и испытывать действие на их работу различных лекарственных веществ. Как показали соответствующие опыты (Кулябко, Заводский), наиболее характерные сердечные средства оказывают на человеческие изолированные сердца то же самое действие, как и на сердца экспериментальных животных.

Бывают случаи, когда изолированное сердце умершего от какой-либо болезни человека не удается оживить пропусканьем чистой жидкости Локка, но оно начинает сокращаться при прибавлении к пропусканной жидкости возбуждающих сердце лекарств, напр. адреналина и кофеина (опыты автора). Эти наблюдения наглядно показывают значение сердечных средств для поддержания жизни больного при упадке деятельности сердца.

3. Исследование сосудов изолированных органов человека.

В 1919 году автором этого очерка в лаборатории проф. Н. П. Кравкова был разработан метод исследования деятельности сосудов человека на изолированных пальцах.

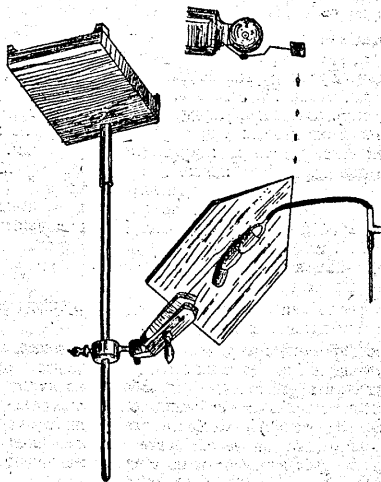


Рис. 8. Изолированный палец человека.

Этот объект оказался чрезвычайно удобным для изучения функции сосудов. В основу методики была положена методика изолированного уха. Палец вычленяется в пястно-фаланговом суставе и располагается, подобно уху, на пятиугольной стеклянной пластинке (см. рис. 8). В ладон-

ные артерии пальца вставляются две тонкие стеклянные ка-
нюли (κ_1 и κ_2), к каюлям через тройник (Т) направляется
нагретая и снабженная кислородом жидкость из обычного
прибора, которым пользуются при исследовании изолирован-
ного сердца и других органов (см. стр. 19).

Жидкость омывает сосудистую сеть пальца, вытекает из
обрезанных вен на стеклянную пластинку, а оттуда капает
на звонок-счетчик. По числу падающих в минуту капель, т.-е.
по скорости протекания жидкости по сосудам пальца, мы
можем судить о состоянии их просвета. Сужение сосудов
сказывается в виде уменьшения числа капель в минуту; рас-
ширение сосудов, наоборот, увеличивает скорость протекания.

Для исследования деятельности сосудов здоровых людей
были использованы пальцы рук и ног, отнятых оперативно,
при чем палец исследовался повсюду быстро вслед за опера-
цией. На сосудах таких пальцев было испытано действие
всех характерных сосудодвигательных лекарственных веществ.
Оказалось, что эти вещества на сосуды человека действуют
совершенно так же, как на сосуды животных. Сосуды пальцев
так же, как сосуды уха, отвечают на раздражение, наносимое
на кожу, и способны давать самостоятельные ритмические
сокращения.

Сосуды пальцев, взятых у трупов здоровых людей, по-
гибших от несчастных случаев, также проявляли нормальную
сократительную способность. Эта сократительная способность
заметно не изменялась в течение первых суток после смерти
субъекта, что свидетельствует о поразительной жизнеспособ-
ности периферических сосудов.

Затем были исследованы сосуды пальцев людей, погибших
от различных болезней. На сосудах таких пальцев исследо-
валось действие адреналина, и по степени сужения можно
было заключить о способности данных сосудов к сокращению.
Пропусканием сосудорасширяющего яда, кофеина, опреде-
лялась их способность давать расширение.

Опыты выяснили, что при большом числе случаев смерти
от различных болезней жизнеспособность периферических со-
судов сохраняется, и сосуды изолированного пальца, взятого
от трупа, в полной мере дают сократительную реакцию.

Это значит, что в момент смерти человека в большинстве
случаев ткани сосудов являются вполне жизнеспособными
и сохраняют эту жизнеспособность много часов после смерти.

Со смертью человека, жизнедеятельность сосудов прекращается вследствие остановки кровообращения, но если возобновить циркуляцию хотя бы искусственной питательной жидкостью, жизнедеятельность сосудов вновь проявляется.

Ткани человеческого организма при его смерти гибнут не одновременно, и в то время, когда парализованы центры продолговатого мозга и остановилась работа сердца, периферические сосуды долго сохраняют свою жизнеспособность.

Автору настоящей статьи удалось получить живую реакцию на пропускаемый адреналин у сосудов пальца, взятого у трупа через 12 дней после смерти. Это была женщина, умершая в городской больнице, тело которой, не взятое родственниками, оставалось в покойнице. Несмотря на зимнее время, разложение уже коснулось покойницы и кожа живота покрылась зеленоватыми пятнами, но в это время сосуды пальца еще сохраняли способность к жизни и, промытые жидкостью Локка, они дали при пропускании адреналина значительное сокращение.

Однако, сократительная способность сосудов человеческих пальцев была обнаружена не во всех без исключения случаях, даже когда они исследовались в первые часы после смерти.

При смерти от тяжелых острых болезней (напр. возвратный тиф) сосуды изолированных пальцев вовсе не давали сужения при пропускании даже весьма больших доз адреналина. Наоборот, способность к расширению на тех же сосудах сохранялась.

Так как пальцы в этих случаях исследовались вскоре после смерти, когда, как указано выше, в здоровых сосудах жизнеспособность еще сохраняется, то отсутствие сократительной способности сосудистой стенки приходится отнести не к посмертным ее изменениям, а к влиянию того болезненного процесса, который имел место и привел к смерти. Очевидно, что в данных случаях разрушительное влияние болезни не ограничилось параличом нервных центров, а глубоко сказалось на деятельности самих сосудов. Отсутствие способности к сужению было налицо еще при жизни больного; в последних стадиях болезни, эти функциональные изменения обнаружались при опыте над изолированным пальцем.

Опыты эти показывают, что перед нами открывается возможность путем экспериментов над изолированными органами,

взятыми у трупа, судить о тех изменениях в них, которые наступили под влиянием болезни.

Вскрытие трупа покойников дает ценные данные для выяснения сущности болезненного процесса и доставляет возможность исследовать изменения структуры органов, которые не могут быть обнаружены при жизни.

Наука об изменении строения органов под влиянием болезни—патологическая анатомия—применяя, наравне с изучением видимых на глаз изменений, микроскопическое исследование тканей и клеток, собрала громадный материал, служащий основанием для объяснения многих явлений, наблюдаемых в больном организме. Патолого-анатомическое вскрытие покойника служит проверкой диагноза, который поставлен врачом при жизни, а патолого-анатомическое исследование органов животных, у которых болезнь вызвана искусственно, углубляет и расширяет наше знание и понимание болезненных процессов.

Однако, все данные патологической анатомии ограничиваются строением больных органов, и судить об их функции при обнаруженных изменениях мы можем только косвенно, учитывая те явления, которые наблюдались при жизни. Наоборот, изучая работу изолированного органа, взятого от больного организма, мы обнаруживаем его функциональные изменения, изменения его деятельности под влиянием происшедших в нем болезненных процессов.

Приведенные выше опыты над изолированными пальцами касаются исследования одной из важных областей организма—сосудистой системы. Исследуя сосуды пальца, взятого у трупа, мы получаем представление о том состоянии, в котором находятся сосуды при данной болезни.

Оказывается, что при некоторых острых заразных заболеваниях сосуды не способны к сужению, и является понятным катастрофическое и неудержимое никакими лекарствами падение кровяного давления, которое наблюдается при этих заболеваниях.

Вслед за описанной работой над сосудами изолированного пальца, в лаборатории проф. Кравкова был предпринят ряд исследований для изучения состояния сосудов различных областей человеческого тела на изолированных органах, взятых у трупов людей, погибших от разных болезней. Г. Л. Шкавера обнаружил особенно частое поражение сосудов почек и селезенки при острых инфекционных заболеваниях.

Одновременным исследованием сосудов пальцев, почек, селезенки и сердца (работы А. А. Нечаева, В. А. Вальдмана и С. В. Апицкова), взятых от одних и тех же трупов, установлено, что прежде всего страдают сосуды брюшных органов, почек и селезенки, теряя способность к сокращению; периферически же сосуды (сосуды пальцев), наоборот, значительно лучше противостоят пагубному влиянию болезни и не реагируют на пропускание сосудодвигательных ядов лишь в исключительных случаях. Сосуды сердца занимают по своей стойкости среднее положение.

Кроме общих заболеваний, которые поражают сосуды наряду с другими тканями, известен болезненный процесс, имеющий место в самих сосудах, так наз. «артериосклероз» (болезнь, наблюдающаяся главным образом у стариков), при котором обнаруживаются особые изменения в стенке артерий.

Представляет большой интерес исследовать деятельность артерий, пораженных склерозом, на изолированных органах. Данные, имеющиеся из наблюдений над больными, говорят за резкое изменение функции сосудов при артериосклерозе; однако, точно выяснить их сократительную способность при жизни больного не представляется возможным.

Опыты на изолированных пальцах, взятых у трупов людей, страдавших склерозом, показали, что сосуды пальцев во многих подобных случаях обладают не меньшей, а даже как будто большей способностью к сужению (чем объясняется, быть может, онемение и зябкость рук и ног артериосклеротиков), и лишь в некоторых, повидимому, крайних степенях артериосклероза сосуды пальцев оказываются вовсе неспособными ни к сокращению, ни к расширению.

Такое же полное отсутствие сократительности обнаружилось и на вельчных сосудах (сосуды сердца) с резко выраженными артериосклеротическими изменениями.

Параллельно с опытами над деятельностью сосудов изолированных пальцев производилось и микроскопическое исследование стенок тех же сосудов.

При этом обнаружилось, что в некоторых случаях, когда сосуды пальца под влиянием болезни потеряли всякую способность к сокращению, при микроскопическом исследовании их, произведенном вслед за опытом, не удавалось обнаружить никаких изменений в их стенке. Очевидно, мы имеем дело с какими-то глубокими, но тонкими изменениями, ко-

торые незаметны даже вооруженному микроскопом главу. Эти изменения сосудов, имеющие роковое для жизни большого значение, ускользающие от микроскопического исследования, могут быть констатированы и изучены при помощи опыта над изолированным органом.

Этот факт показывает, что эксперименты над изолированным органом иногда являются более тонким анализом, чем микроскопическое исследование ткани пораженных болезнью органов. Таким образом, рассматриваемый нами метод может быть использован наукой, изучающей болезненные процессы — патологией.

Параллельное исследование деятельности пораженного болезнью изолированного органа и изучение под микроскопом его структурных изменений имеет большое значение для выяснения влияния тех или иных видимых изменений тканей на функцию органа.

Что касается сосудов, то провести с достаточной полнотой такое параллельное обследование, пользуясь методичкой изучения их деятельности на целом изолированном органе (палец, почка, селезенка) по обычному способу, не представляется удобным. Пропуская жидкость через сосудистую систему всего органа и следя по скорости протекания за изменениями просвета сосудов, мы не можем наблюдать за участком различных отделов сосудистой сети в сокращении или расширении.

Если в игре сосудов проявляются отклонения от нормы, и мы хотим исследовать, нет ли в сосудах микроскопических изменений, являющихся причиной ненормальной сократительности, — для точного и окончательного ответа нам пришлось бы микроскопически обследовать различные отделы сосудистой сети, подвергнув гистологическому изучению чуть ли не весь орган, что является крайне затруднительным.

Кроме промывания сосудистой системы целого изолированного органа, имеется другой метод изучения сократительной деятельности артерий, о котором упоминалось в главе о гладкомышечных органах, — это метод исследования полосок, вырезанных из крупных артерий, предложенный немецким физиологом Фрейем и разработанный его учеником Мейером в 1906 году. Способ этот заключается в следующем: у артерии вырезается кольцо, шириною в полсантиметра; кольцо разрезается, и полученная таким образом полоска

растягивается в стаканчике с Локковской жидкостью. Один конец полоски прикрепляется ко дну стакана, другой соединяется с пишущим рычагом. Стаканчик ставится в нагретую ванну и через жидкость пропускается кислород (установка та же, как в опыте с отрезком изолированной кишки, см. рис. 7).

При прибавлении в стакан сосудосуживающих ядов, соудистая стенка, развернутая в виде полоски, сокращается, и это сокращение записывается пишущим рычагом.

Описанная методика имела широкое применение для обследования физиологии и фармакологии различных артерий животных. Она, быть может, вследствие большей искусственности условий уступает обычной методике по своей чувствительности, но зато, следуя одно определенное место артерии, мы знаем, что наблюдаемое сокращение целиком идет за счет лишь данного отрезка, который может быть весь исследован микроскопически.

Это имеет особое значение для параллельного обследования структуры и сократительной способности артерии, и надо было использовать описанный метод для разрешения вопросов о соответствии между микроскопическим изменением и сократительностью артерий человека при различных заболеваниях.

Подобная работа выполнена д-ром Ф. В. Гринберг в лаборатории проф. А. А. Лихачева (опубликована в текущем 1924 году).

Для исследования брались полоски из артерий трупов погибших от различных болезней людей, несколько часов после смерти. При этом оказалось, что во многих случаях полоски, вырезанные из артерий, сокращаются при прибавлении к омывающей их жидкости адреналина. В других же случаях, где сосуды подвергались влиянию болезненных процессов, артериальные отрезки не отвечали на прибавление адреналина, стало быть, оказывались неспособными сокращаться. Те самые кусочки артерий, сократительная способность которых была испытана адреналином, подвергались затем подробному микроскопическому обследованию. Сопоставление результатов привело к следующим выводам: те артерии, которые хорошо сокращались, не представляли значительных изменений своей структуры; наоборот, большинство артерий, не реагирующих на адреналин, оказались с резко

выраженными изменениями склеротического характера, при чем удалось установить степень склероза, с которой начинается понижение сократительной способности артерий; наконец, было найдено несколько случаев, когда артерии не сокращались под влиянием адреналина и, несмотря на это, при самом тщательном исследовании в них не удалось обнаружить структурных изменений. Эти случаи отнеслись к острым заразным заболеваниям, что вполне совпадает с наблюдениями, сделанными ранее на изолированных пальцах.

Приведенные факты достаточно показывают значение посмертного экспериментального обследования изолированных органов человека.

Подобные исследования касались лишь сосудов и сердца; они являются только первыми шагами теоретической медицины по этому новому пути, и несомненно, что для будущих исследований здесь открывается широкое поле.

Можно думать, что настанет время, когда исследование деятельности изолированных органов, взятых у трупа, будет столь же распространенным и будет иметь то же значение, какое теперь имеет патолого-анатомическое вскрытие, и опыты над переживающими органами покойника будут служить для проверки диагноза и правильности лечения, а также для изучения сущности болезни.

Заключение.

Описывая в отдельных главах нашего очерка деятельность различных изолированных органов, нам приходилось встречаться со случаями, когда рассматриваемая методика применялась для разрешения вопросов как физиологии, так и фармакологии и патологии. Мы видели, что данная методика имеет не только теоретический интерес, а может служить для жизненных целей практической медицины.

Большое число ученых исследователей, среди которых видное место занимают русские имена, посвятили свой труд разработке метода исследования изолированных органов и применяли этот метод для решения различных проблем. Однако, научная работа в этой области не может считаться законченной. Требуется новые усовершенствования метода, возможно дальнейшее расширение области его применения.

Научная мысль никогда не останавливается на полдороге. Достигнутые результаты, открывая новые горизонты, являются лишь стимулом к новым поискам. Современной наукой, на пути исследования деятельности изолированных органов, сделаны большие достижения, но работа в этом направлении непрерывно продолжается, и можно думать, что еще наше поколение будет свидетелем дальнейших успехов в области изучения жизни органов вне организма.

Н. Г. ХЛОПИН

Преподаватель Военно - Медич. Академии

КУЛЬТУРА ТКАНЕЙ
ВНЕ ОРГАНИЗМА

THE UNIVERSITY OF CHICAGO

PHYSICS DEPARTMENT

PHYSICS 111
LECTURE 11

LECTURE 11

Исторический очерк.

Способность к самостоятельной жизни изолированных частей тела многоклеточных животных организмов была известна уже давно. Опытами над регенерацией у низших беспозвоночных была установлена высокая степень самостоятельности отрезанных кусочков тела и изолированных клеток, которые, во многих случаях, могут не только сохраняться живыми, но, путем ряда перестроек и деления клеток, даже вновь восстанавливать все недостающие органы и превращаться в нормальное целое животное, т.-е. регенерировать. У более сложно организованных животных, в частности у позвоночных, способность к регенерации оказывается значительно слабее и сводится лишь к восстановлению незначительных утрат или только к заживлению ран. Несмотря на это, многие органы и ткани позвоночных животных могут, при известных условиях, сохраняться живыми довольно долгое время в изолированном виде. Я не буду здесь останавливаться на опытах с переживанием изолированных органов, которым посвящен отдельный очерк¹, а прямо перейду к фактам, которые касаются изолированных тканевых клеток.

Высокая степень самостоятельности белых кровяных клеток, лейкоцитов, уже давно обратила на себя внимание. Еще Геккель, Вирхов, Конгейм, Реклингаузен и многие другие изучали под микроскопом амебодное движение этих клеток в изолированном виде; а Жолли (в 1903 году и позднее) сохранял кровь амфибий живой в течение месяцев в запаянных трубках при 0° и наблюдал вне организма деление кровяных клеток амфибий и млекопитающих. Ремак в 1851 году наблюдал изолированные зародышевые клетки,

¹ См. предыдущий очерк.

бластомеры. Ру в 1884 году описал развитие частиц тела некоторых зародышей в 0,5% растворе хлористого натрия.

Борн в 1894 году показал, что кусочки зародышей амфибий продолжают некоторое время жить в фильтрованном белке куриного яйца, при чем их клетки сохраняют при таких условиях способность к размножению.

В 1897 году Лео Леб сообщил, без указания методики, что ему удалось культивировать как вне организма, так и в организме некоторые тканевые клетки. Несколько позднее (в 1902 году) он описал подробнее методику и результаты своих опытов, которые сводились к следующему: помещая кусочки кожи зародышей морской свинки в агар-агар или свернутую сыворотку крови, он все вместе вводил в организм взрослой морской свинки и мог наблюдать при этих условиях внедрение в окружающую питательную среду и размножение кариокинезом, т.-е. непрямым делением эпителиальных клеток. Кроме того, ему удалось получить разрастание эпителия, вводя под кожу уха морской свинки свернутую сыворотку или агар-агар и приводя в соприкосновение с ними маленькие лоскутки кожи уха.

Первые удачные тканевые культуры, в полном смысле этого слова, удалось получить американскому ученому Россу Гарри сону (в 1907 году), который показал, что в капле свернувшейся лимфы лягушки возможен длительный рост некоторых тканей, в частности нервных волокон зародыша лягушки.

Методика его опытов заключалась в следующем: у зародышей лягушки, при наблюдении с помощью особого «препаровального» микроскопа, стерильно отсекались маленькие кусочки различных органов—зачатка нервной системы (нервной трубки), первичных сегментов (сомитов) и тому под. и сеялись на стерильное покровное стекло в каплю лимфы, полученной с помощью стерильной пипетки из спинного лимфатического мешка взрослой лягушки. Лимфа быстро свертывалась на стекле и фиксировала заключенный в ней кусочек органа. После этого покровное стекло помещалось каплей вниз над углублением, вышlifованным в предметном стекле, и закреплялось в таком положении герметически с помощью жидкого парафина. В полученной таким образом «висячей капле», находящейся в герметически закрытой влажной камере, и мог изучаться, непосредственным наблюдением под микроскопом, рост тканей посеянного кусочка. Для

удачи опыта необходимо строжайшее соблюдение асептики, так как заражение плесенью или бактериями в короткое время губит культуру.

Удачные культуры оставались, в опытах Гаррисона, живыми и росли обыкновенно в течение 2 недель, а иногда и дольше—до 5 недель и более. В них можно было наблюдать размножение клеток, выселение (эмиграцию) амёбодных элементов из кусочка в окружающую питательную среду, внедрение в свернувшуюся лимфу целых тяжёлых клеток и, наконец, образование нейробластоп, т.-е. зародышевыми нервными клетками, нервных волокон.

Последнее явление можно было видеть уже на следующий день после приготовления культуры: у нейробластов появлялись тонкие отростки, нервные волокна, снабженные булавовидным утолщением на конце, которые, постепенно увеличиваясь в длину, вросли из кусочка в лимфу, ветвились и о течением времени достигали значительной величины.

Дальнейшим усовершенствованием техники тканевых культур мы обязаны Монроу Берроусу, который, работая в 1910 году в лаборатории Гаррисона, заменил лимфу плазмой крови, т.-е. кровью, лишенной форменных элементов. Это в значительной степени облегчило приготовление питательной среды, пригодной для культур тканей различных животных, и позволило культивировать вне организма материал, взятый от теплокровных. Для первых опытов Берроусу служили частицы тела куриного зародыша — кусочки сердца, кожи, нервной трубки и проч.; в качестве среды он пользовался плазмой крови взрослой курицы. Приготовленные по вышеописанному способу культуры помещались в термостат при 39° Цельсия.

При этом оказалось, что кусочки сердца в культурах продолжали ритмически сокращаться в течение 8 дней. Эпителий, мезенхима (зародышевая соединительная ткань) и нервы росли очень быстро, а мышцы—значительно медленнее.

Последующие работы в этой области и дальнейшая разработка методики принадлежат А. Каррелю, первоначально совместно с Берроусом, а затем с целой школой многочисленных сотрудников. Работы эти, начатые в нью-йоркском Рокфеллеровском институте в 1910 году, непрерывно продолжаясь до настоящего времени, дали чрезвычайно богатый фактический материал.

Первоначальная методика Карреля и Берроуса состояла в культивировании кусочков органов различных животных в плазме крови того же самого животного, от которого бралась ткань для посева (так назыв. аутогенная или аутологическая плазма), или в плазме другого животного того же вида (гомогенная или гомологическая плазма), при нормальной для данного животного температуре тела.

Пользуясь в качестве опытных животных собаками и кошками, этим ученым удалось получить удачные культуры соединительной ткани, костного мозга, селезенки, брюшины, различных желез и кожи, и показать, таким образом, возможность культивирования вне организма тканей взрослых млекопитающих.

Для получения большего количества растущей вне организма ткани Каррель и Берроус, кроме уже описанных культур на покровных стеклах, стали готовить их на стеклянных пластинках, в стеклянных чашках Петри, в пробирках и тому подобное.

Кроме того, оказалось, что лучше результаты дает плазма, разведенная стерильной дистиллированной водой (на $\frac{2}{5}$ по объему).

Предельный срок жизни тканей вне организма оказался в первых опытах Карреля и Берроуса довольно коротким: рост культур прекращался по истечении нескольких дней (от 3 до 15 дней), после чего посеянная ткань умирала. Для продления жизни культур эти авторы предложили и разработали метод пересевов или пассажей, который заключается в своем окончательном виде в следующем: разросшийся кусочек ткани вырезается через несколько дней после посева из питательной среды, промывается в так называемой Рингеровской жидкости (физиологическом солевом растворе) и затем переносится в свежую каплю плазмы. Повторяя периодически промывание и пересевы, удается получить уже длительный рост тканей вне организма (1912 год).

В следующем 1913 году Каррелю удалось добиться еще одного усовершенствования метода, а именно—увеличения скорости роста культур прибавлением к питательной среде экзотракта (вытяжки) из зародыша или некоторых органов взрослых животных, приготовленного их растиранием с Рингеровской жидкостью.

Поэтому в дальнейшем Каррель, а за ним и другие исследователи, стали пользоваться питательной средой, состоящей из 2 частей разведенной водой плазмы и 1 части экстракта.

Этим усовершенствованиями в сущности и была закончена выработка метода тканевых культур, сделавшего возможным очень длительное культивирование и изучение жизни тканей вне организма.

В настоящее время в лаборатории Карреля имеются тканевые культуры соединительной ткани возрастом более 12 лет, претерпевшие около двух тысяч пересевов.

Кроме плазмы крови, оказавшейся безусловно лучшей средой для тканевых культур, разными исследователями был предложен ряд других сред, как твердых, так и жидких, самого разнообразного состава; напр. сыворотка крови, смесь сыворотки с агаром, физиологические солевые растворы с виноградным сахаром (жидкость Рингер-Локка), жидкость Локка с бульоном, бульон или экстракт с агаром и тому подобное.

В настоящее время, благодаря работам целого ряда исследователей, получены тканевые культуры почти из всех органов многих представителей млекопитающих и человека, а также их вароидшей. Изучен также рост вне организма различных злокачественных опухолей.

Почти в такой же степени изучены культуры тканей птиц, главным образом курицы и куриного зародыша. Значительно меньшее количество работ посвящено изучению культур из тканей холоднокровных позвоночных — рыб, амфибий и пресмыкающихся. Наконец, изучение тканевых культур беспозвоночных животных еще только начинается в настоящее время. Этому вопросу посвящено лишь очень небольшое число работ.

Кроме культур различных животных тканей, по почину Габерлянда, были также поставлены опыты с выращиванием тканей растений в разных питательных средах. Целому ряду авторов удалось наблюдать в течение нескольких недель рост и размножение вне организма растительных клеток в тонких пластинках картофельных клубней, в изолированных концах корешков и т. п.

II.

Современная методика опытов с тканевыми культурами.

Техника приготовления тканевых культур естественно распадается на следующие главные моменты: 1) приготовление питательных сред; 2) приготовление матерьяла для посева; 3) приготовление культур; 4) продление жизни культур с помощью пересевов.

Самым важным моментом всей методики является выбор и приготовление подходящей питательной среды, которая должна удовлетворять ряду требований: во-первых, иметь подходящий химический состав, т.е. содержать необходимые для питания изучаемых тканей питательные вещества; во-вторых, иметь подходящие физико-химические свойства, т.е. необходимую концентрацию различных солей и, обуславливаемое ею, нормальное для тканей данного животного осмотическое давление, а также подходящую химическую реакцию, которая определяется содержанием водородных и гидроксильных ионов; наконец, в-третьих, питательная среда должна давать растущим клеткам необходимую механическую опору.

Необходимые для питания клеток органические вещества (белки, углеводы и жиры), а также и неорганические соли содержатся—в наиболее естественном виде—в плазме крови, которая поэтому и является безусловно наилучшей питательной средой.

Однако нет необходимости пользоваться для посева непременно плазмой крови животного того же вида, к какому принадлежит культивируемая ткань, т.е. плазмой аутогенной или гомогенной; можно также с большим удобством применять кровь животных другого вида и даже класса. Напр., в плазме крови кролика, разведенной в пужной пропорции водой, прекрасно растут не только ткани различных млекопитающих и человека, но и птиц, пресмыкающихся, амфибий и рыб (Н. Хлопип).

Питательной составной частью различных искусственных питательных сред может во многих случаях быть бульон, приготовленный из того же вида животного, от которого берется ткань для посева (Льюис).

Всем необходимым для жизни тканей физико-химическим условиям также лучше всего удовлетворяет плазма.

В искусственных же питательных средах они создаются с помощью физиологических солевых растворов, в состав которых входят в определенном отношении соли натрия, калия, кальция, а иногда и магния, часто с добавлением, в качестве питательной составной части, виноградного сахара (глюкозы)—жидкости Рингера, Локка, Тирода. Нужная химическая реакция в таких жидкостях достигается прибавлением двууглекислой соды, а также, в некоторых случаях, фосфорнокислых солей натрия¹.

Роль твердого субстрата, опоры, для тканевых культур была выяснена уже очень рано. Реакция клеток на его присутствие, заключающаяся в их расплывании и продвижении по нему, была названа Гаррисоном — стереотропизмом. Самым лучшим твердым субстратом является безусловно образующийся вокруг посеянного кусочка в капле плазмы сверток фибрина, имеющий вид студня, желе. Его войлокообразно сплетающиеся в разных направлениях, микроскопической толщины волокна дают тканевым клеткам возможность продвигаться, пользуясь ими, как опорой, во всевозможных направлениях. Соответствующей концентрации агаровая среда может до известной степени быть суррогатом фибрина, хотя и имеет существенные недостатки. Кроме того, при употреблении жидких сред, оказалось возможным дать клеткам необходимый твердый субстрат в виде тонкого шелкового газа, паутинны, хлопчато-бумажных волокон и проч. Однако эти суррогаты, вследствие своих значительных неудобств, не получили большого распространения. Что же касается до жидких сред в чистом виде, то они вообще этому механическому условию не удовлетворяют, поэтому в них разрастание тканевых элементов оказывается возможным только в одной плоскости—по нижней поверхности стекла, на котором находится посеянный кусочек органа.

Приготовление питательных сред, равно как и все другие манипуляции при приготовлении культур,

¹ Состав жидкости Рингера для тканей млекопитающих: хлористого натрия 9,0 гр.; хлористого кальция—0,2 гр.; двууглекислого натрия—0,2 гр.; дистиллированной воды—1.000,0 гр. Для амфибий берется солей по $\frac{2}{3}$ указанного количества, т. е. 6,0 гр. хлористого натрия и проч. на такой же объем воды. Жидкость Рингер-Локка представляет из себя жидкость Рингера, к которой еще приовлеен виноградный сахар (глюкоза) в количестве 0,1%—0,2%.

должны производиться с соблюдением всех правил бактериологической стерильности, во избежание заражения культур микроорганизмами. Подробнее я здесь остановлюсь лишь на приготовлении плазмы крови.

Во избежание преждевременного свертывания, вся посуда, предназначенная для сохранения крови и плазмы, должна быть изнутри парафинирована или промаслена и охлаждена во льду.

Кровь берется у животных большей частью с помощью ввязанной в кровеносный сосуд промасленной канюли или шприца и собирается в стоящий во льду сосуд, напр., пробирку от центрифуги или похожий на нее по форме, особый кровоприемник, после чего подвергается, для отделения от нее ферментных элементов, центрифугированию при постоянном охлаждении. После центрифугирования кровь разделяется на три слоя: нижний, алого цвета, состоит из красных кровяных телец — эритроцитов и занимает около половины объема всего взятого количества крови; средний слой, имеющий вид очень тонкой белой пленки, состоит из белых кровяных клеток — лейкоцитов, а верхний — из прозрачной, слегка желтоватого цвета, жидкой плазмы.

Плазма, с помощью пипетки, переносится в другой сосуд, плазмоприемник, и разбавляется в нужной пропорции стерильной ледяной водой. Если плазма принадлежит кролику и предназначена для посева тканей теплокровных, ее лучше всего развести на $\frac{1}{3}$ по объему. Если же в ней предполагают посевать кусочки органов холоднокровных позвоночных животных, напр. пресноводных рыб или амфибий, ткани которых имеют меньшее осмотическое давление, то полученную плазму разводят водой на половину. Готовая к употреблению плазма сохраняется до посева во льду.

Разведение ее водой имеет тот смысл, что при всех последующих процедурах неизбежно происходит сгущение плазмы, вследствие испарения воды. Кроме того, разведение повидимому благоприятствует росту тканей (Каррель и другие).

Чтобы избежать парафинирования сосудов и охлаждения, можно также пользоваться прибавлением к крови веществ, препятствующих ее свертыванию, напр. щавелевокислого или лимоннокислого натрия.

Применение этих последних веществ основано на том, что они нацело осаждают кальций, содержащийся в крови и не-

обходимый для ее свертывания, в виде нерастворимых соединений. Чтобы вернуть плазме ее способность свертываться, к ней перед самым посевом вновь прибавляют, в нужном количестве, растворимую соль кальция—хлористый кальций. Такой способ однако имеет существенные недостатки, так как усложняет методику и подвергает плазму химическим воздействиям, которые могут отразиться нежелательным образом на ее свойствах. Поэтому лучше пользоваться по мере возможности чистой плазмой.

Что касается до стимулирующих рост экстрактов, то их готовят из зародышей или некоторых органов взрослых животных, напр. селезенки, костного мозга и проч., разрыванием в ступке с Рингеровской жидкостью и последующим центрифугированием для отделения экстракта от обрывков тканей.

Приготовление искусственных питательных сред не представляет каких-нибудь особенностей, поэтому я на нем останавливаться не буду.

Приготовление материала для посева в самых общих чертах заключается в следующем. Части органов или зародыши, подлежащие посеву, помещаются в стерильный физиологический раствор, в котором и подвергаются измельчению, с помощью тонких инструментов, на кусочки величиной около 1 миллиметра.

Если имеют дело с органами теплокровных животных, то лучше пользоваться раствором, нагретым до температуры тела животного (около 38°—39° Цельсия). Такое значительное измельчение необходимо, потому что в культурах отсутствует кровообращение, имеющее при нормальных условиях место в целом организме и обуславливающее правильную циркуляцию тканевых соков, приносящих клеткам кислород и питательные вещества и удаляющих из них ядовитые продукты обмена веществ. В культурах питание происходит исключительно за счет диффузии, просачивания снаружи внутрь кусочка питательных веществ, а удаление продуктов обмена—тем же путем, но только в обратном направлении. Поэтому центральные части посеянных кусочков будут неизбежно находиться в состоянии голодания и быстро погибают, если их величина превышает только что указанную. Но даже и в таких маленьких кусочках, если они принадлежат теплокровным

животным, большую часть. наблюдается гибель клеток в центральных, удаленных от питательной среды, частях.

Приготовленные культуры или посев производятся разными способами. Удобнее всего пользоваться упомянутым выше методом «висячей капли», который дает возможность шаг за шагом следить за изменениями культуры при ее жизни, пользуясь микроскопом, и применять при этом, в случае необходимости, очень сильные увеличения (в 1000 и более раз).

В качестве влажной камеры служат особые предметные стекла большого размера с углублением, край которого обводится перед опытом кольцом из вазелина. При посеве в плазму с экстрактом на покровное стекло, соответствующего формата, наносится капля экстракта с помощью тонкой пипетки, в каплю помещается 1—2 кусочка ткани, после чего прибивается 2 капли плазмы.

После того, как капля среды свернется и примет вид студня, покровное стекло осторожно перевертывается каплей вниз и накладывается на обведенное вазелином углубление предметного стекла. Осторожным надавливанием по краям предметное стекло плотно прижимается к вазелину, чем обеспечивается герметичность влажной камеры.

Наконец, на края покровного стекла сверху накладывают рамку из парафина. Обыкновенно, вместе с посевом, в углубление предметного стекла капают небольшую каплю раствора Рингера, чтобы предохранить питательную среду от излишнего высыхания. На рис. 1 и 2 изображена готовая культура в висячей капле так, как она видна при рассмотрении сверху, и в разрезе. При употреблении других питательных сред техника посева в своих главных чертах соответствует вышеописанной.

При культивировании больших количеств ткани, в качестве влажных камер можно применять различные стеклянные чашки с крышками. Кроме того, для приготовления культур были предложены специальные аппараты (Берроус, Ромейс), позволяющие постоянно поддерживать ток свежей жидкой питательной среды через культуру. Применение таких приборов дает возможность избежать пересевов, необходимых для длительного культивирования. Такие приборы, однако, довольно сложны и до сих пор не получили распространения.

Сущность техники пересевов уже была изложена в конце исторического очерка первой главы, поэтому я на

ней больше останавливаться не буду. Они должны проповодиться тем чаще, чем быстрее растет ткань. Культуры в плазме крови зародышевых тканей теплокровных животных пересаживаются большей частью через каждые 2—4 дня, ткани взрослых теплокровных—на 5—7 дней, а ткани холоднокровных животных—через 2—3 недели.

Культуры тканей теплокровных животных помещаются в термостат при температуре 38° — 39° Цельсия, т. е. нормальной температуре тела. Ткани холоднокровных животных лучше всего растут при 23° — 24° Ц., но могут расти и при комнатной температуре.

Изучение культур происходит при их жизни, а также и на приготовленных из них, окрашенных гистологических препаратах.

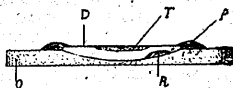
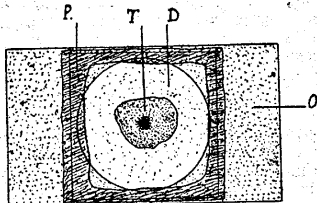


Рис. 1 и 2. Общий вид готовой культуры по типу висячей капли сверху и в разрезе. О—предметное стекло с углублением по середине; Д—покрывное стекло; Т—капля питательной среды с посеянным кусочком; Р—капля Рингерова раствора (не обозначена на рис. 1); Р—рамка из парафина. На рис. 2 кроме того виден между краем покрывного стекла и предметным стеклом слой вазелина. (Уменьшено на $\frac{1}{2}$).

III.

Жизнь тканевых культур и различные виды их роста.

В жизни тканевых культур, при отсутствии пересевов, можно различить два периода, без резкой границы сменяющих друг друга.

В течение первого времени после посева интенсивность жизненных процессов, выражающихся в росте, движении

клеток, а также, во многих случаях, в их размножении делением, постепенно нарастает и достигает, наконец, своего расцвета. Однако, вместе с тем, растущие ткани постепенно расходуют питательные вещества среды и выделяют различные, вредные для жизни, продукты обмена веществ. Вследствие этого условия существования тканевых клеток с течением времени становятся хуже, и расцвет культуры постепенно сменяется периодом увядания; жизненные процессы постепенно угасают, в клетках появляются болезненные изменения. В конце концов культура погибает. Не нужно, однако, думать, что увядание культур наступает внезапно. Как уже было упомянуто, разные части посеянного кусочка находятся в неодинаковых условиях существования. В то время, как в поверхностных слоях ткани кусочка условия существования оказываются наиболее благоприятными вследствие легкого доступа к ним питательных веществ и кислорода, клетки, лежащие в глубине, уже очень рано начинают голодать. В культурах тканей теплокровных животных, которые отличаются наибольшей нежностью, поэтому уже в течение первых или вторых суток после посева часто наблюдается гибель центральных участков культуры. Это не обуславливает, однако, еще наступления периода увядания для всей культуры; он наступает позже, когда начинается затухание жизненных процессов в клетках, выросших в питательной среде или находящихся в поверхностных частях кусочка.

При пересевах удается очень значительно продлить период расцвета культур. Соединительная ткань при этом, даже после более чем двенадцатилетнего культивирования, может продолжать энергично разрастаться без каких-либо признаков увядания. С другой стороны, нервная ткань, несмотря на пересевы, не оказалась способной к длительной жизни вне организма. Нервные клетки неизбежно погибают через более или менее непродолжительное время, большей частью уже в конце первой или в течение второй недели после приготовления культур. Быстрее всего умирают опять-таки нервные клетки теплокровных животных. Такая же судьба, повидному, постигает и поперечно-полосатые мышцы. Поэтому, по отношению к этим высокоспециализированным и, в то же самое время, наиболее нежным тканям, до настоящего времени, приходится говорить о настоящих культурах. Наблюдаемые в них вне организма явления правильнее обозначить, как

переживание. Истинные же культуры оказались до сих пор возможными только для соединительной и эпителиальной тканей.

Рост различных тканей, входящих в состав сложно-устроенного организма позвоночных животных, имеет в культурах неодинаковый характер. Можно различать три главных вида роста, которые носят названия по тем тканям, для которых они по преимуществу являются характерными. Мы их обозначим, как соединительно-тканый, эпителиальный и нервный типы роста.

В виду того, что соединительная ткань входит в состав всех органов позвоночных животных, ее рост может наблюдаться—в большей или меньшей степени—почти в каждой жизнеспособной культуре. Поэтому мы наше описание и начнем с роста соединительной ткани.

1. Соединительно-тканый рост.

Соединительная ткань имеет при нормальных условиях в целом организме двойное значение: с одной стороны, она дает необходимую опору всем органам, с другой — служит проводником, необходимых для всех клеток, питательных веществ, растворенных в протыкающем ее тканевом соке. Тот же тканевый сок служит и для удаления из клеток продуктов их жизнедеятельности. В различных разновидностях соединительной ткани преобладает то одна, то другая ее функция.

Сообразно с этим соединительная ткань имеет в разных местах организма неодинаковое микроскопическое строение.

В состав соединительной ткани входят живые клетки и, не обладающие самостоятельной жизнью, промежуточные вещества, которое по своему количеству часто значительно преобладает над клетками. Различают два главных вида соединительно-тканых клеток: оседлые, неспособные к амебoidному движению, которые обладают чаще всего веретенообразной или неправильной «звездчатой» формой тела с заостренными отростками,—эти клетки носят название фибробластов.—и свободные, блуждающие клетки, которые могут, подобно амебам, ползать с места на место с помощью псевдоподий (ложных ножек); среди них различают несколько разновидностей, отличающихся по своему строению. Все эти клетки можно на-

звать амебодными (похожими на амёбы) клетками. К этой категории между прочим относятся белые кровяные клетки—лейкоциты. В крови, которая представляет из себя особый вид соединительной ткани, промежуточное вещество, т.-е. плазма крови, жидкое, и клетки в ней свободно плавают. В соединительной ткани зародышей, так наз. мезенхиме, промежуточное вещество имеет характер полужидкого студня, выполняющего все промежутки между рыхло расположенными, соединенными своими отростками, звездчатыми мезенхимными клетками. В простой соединительной ткани взрослых животных промежуточное вещество—более или менее мягкое и состоит из студенистой основы, содержащей пробстающие в разных направлениях волокна. Наконец, в осебных, по преимуществу опорных или скелетных видах соединительной ткани, промежуточное вещество—твердое, в котором клетки оказываются как бы замурованными. Из этих видов соединительной ткани, хряща и костной ткани, преимущественно и состоит скелет позвоночных животных. Таким образом, все разновидности соединительной ткани можно расположить в один ряд, руководствуясь характером входящего в их состав промежуточного вещества. В начале этого ряда будет находиться кровь, имеющая исключительно питательное значение, в жидком промежуточном веществе которой плавают лишь свободные клетки амёбодного типа (лейкоциты) и красные кровяные тельца, которые, по своему происхождению, следует отнести к тому же типу.

Мезенхима и рыхлая волокнистая соединительная ткань имеют мягкое, полужидкое, промежуточное вещество и, кроме питательного, известное опорное значение. Они содержат уже оба основных типа соединительно-тканевых клеток. Наконец, самые плотные виды волокнистой соединительной ткани (напр. сухожилия, хрящ и кость) имеют уже исключительно скелетную, механическую функцию, плотное или твердое промежуточное вещество и содержат лишь замурованные в нем, оседлые, неподвижные клетки.

Рост соединительной ткани имеет в культурах очень характерный вид¹. При рассматривании свежеприготовленной

¹ В дальнейшем изложении, если не будет специальных оговорок, мы будем исключительно говорить о культурах в плазме крови, так как различные типы роста лучше всего изучены в этой среде.

культуры простым глазом или при слабом увеличении посеянный кусочек имеет ясный контур и представляется резко отграниченным от окружающей его питательной среды (рис. 3). Первые признаки роста можно заметить через различное время после посева. Скорее всего рост начинается в культурах частиц тела зародышей теплокровных животных и злокачественных опухолей (часто уже в первые часы после посева).

Ткани взрослых теплокровных животных прорастают медленнее, в среднем через 12—48 часов после посева, а ткани холоднокровных большей частью через 4—5 суток.

При начинающемся росте, край посеянного кусочка теряет свой резкий контур вследствие появления на нем острых выступов, вдающихся со всех сторон в питательную среду. При рассмотривании под слабым увеличением кажется, будто из кусочка начинает

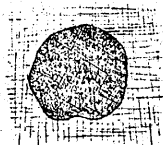


Рис. 3. Общий вид посеянного кусочка до начала роста. Сетка вокруг кусочка изображает в очень схематизированном виде фибрин свернувшейся капли плазмы. Слабое увеличение.

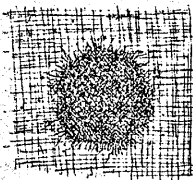


Рис. 4. Начало роста культуры по соединительно-тканному типу. Появление «травовидных» выростов и эмиграция блуждающих клеток. Слабое увеличение.

вырастать трава или заостренные копыя. Поэтому, такой соединительно-тканый рост и носят название «травовидного» или «копьевидного» (рис. 4). Одновременно с появлением травовидных выростов или несколько раньше, из кусочка в питательную среду начинают эмигрировать (выселяться) в большем или меньшем количестве амебодные, блуждающие клетки. С течением времени травовидные выросты становятся длиннее и многочисленнее. Они все дальше внедряются в питательную среду, главным образом в радиальном направлении, соединяются друг с другом отростками и образуют в результате вокруг посеянного кусочка рыхлую сетчатую ткань (рис. 5), состоящую из соединенных своими отростками, веретенообразных или звездчатых клеток. Такие же копьевидные, отростчатые клетки

встречаются вокруг кусочка и поодиночке, не соединенными друг с другом.

В петлях сетевидной новообразованной ткани и вне ее, в более удаленных от кусочка частях среды бывают заметны отдельные круглые или амебоидные клетки разной величины. При рассматривании такой разросшейся культуры простым

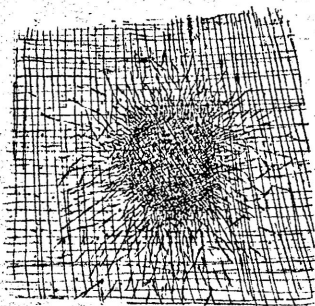


Рис. 5. Дальнейшая стадия роста такой же культуры. Рыхлые тяжи веретенообразных клеток (фибробластов) образуют вокруг посеянного кусочка широкое кольцо разросшейся ткани. Слабое увеличение.

глазом, посеянный кусочек кажется окруженным мутным, непрозрачным кольцом или венчиком, край которого, делаясь книзу светлее, теряется без всякой границы в окружающей питательной среде. Последнее зависит от того, что новообразованная ткань с удалением от центра становится все рыхлее.

Заостренные, отростчатые клетки соединительно-тканых культур происходят из оседлых клеток соединительной ткани; поэтому их также принято называть фибробластами.

При длительном культивировании в течение месяцев и лет со многими пересевами, амебоидные клетки постепенно исчезают, частью умирая, частью превращаясь в отростчатые клетки, неотличимые от фибробластов. Поэтому старые культуры, наприм. имеющиеся в лаборатории Карреля культуры соединительной ткани куриного зародыша, непрерывно растущие вне организма уже свыше 12 лет, состоят исключительно из фибробластов, продолжающих энергично разрастаться поодиночке или рыхлыми тяжами.

Фибробласты имеют в культурах частиц органов различных позвоночных животных очень сходный вид и отличаются главным образом своей величиной. Они имеют чаще всего вытя-

нутые в длину, закругленной формы ядра и неправильное протоплазматическое тело с острыми отростками (рис. 6 и 7). С течением времени в их протоплазме накапливаются мелкие капли жира и особые зерна белковой природы. Старые культуры и состоят из таких зернистых «бессмертных» фибробластов.

Для амебоидных клеток характерна очень неправильная, то почти круглая, то листоватая форма тела, которая при движении живых клеток все время меняется; то здесь, то там на поверхности протоплазмы образуются большие выступы, с помощью которых клетка ползает с места на место. Форма ядра в таких

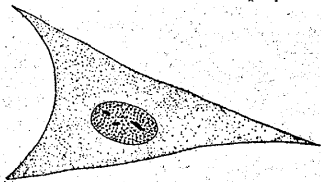


Рис. 6. Отростчатая соединительно-тканевая клетка (фибробласт) в культуре (увеличение ок. 600 раз).



Рис. 7. Такая же клетка веретенообразной формы с каплями жира в протоплазме (окрашены в черный цвет).

клетках обыкновенно также изменяется при их движении; оно чаще всего имеет разные вдавления и выступы, бывает то закругленным, то вытянутым в длину или перешпурованным. Некоторые амебоидные клетки обладают лишь тонким ободком протоплазмы (так наз. лимфоциты); другие, наоборот, очень объемистым телом (так наз. полибласты). Такие амебоидные полибласты обладают способностью забирать в свою протоплазму, как бы заглатывать, различные мелкие частицы, инородные тела, а также отмирающие клетки, бактерии и тому подобное. Вследствие этого они часто бывают набиты всевозможными включениями, которые могут постепенно растворяться в их протоплазме, перевариваться. Способность клеток к захватыванию разных плотных частиц называется фагоцитозом (Мечников). В культурах явления фагоцитоза можно наблюдать с особенной яркостью, если

прибавить к питательной среде какой-нибудь мелкий порошок, напр. так называемое плауновое семя, тушь и тому подобное. Очень часто приходится наблюдать, как около инородных тел несколько, иногда очень много, полибластов сливаются вместе, образуя объемистые протоплазматические массы со многими ядрами. Такие образования носят название синцитиев или гигантских клеток.

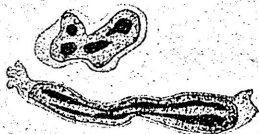


Рис. 8. Два лимфоцита в культуре в состоянии амебoidalного движения. (Увеличение ок. 1.200 раз).

Некоторые примеры амебoidalных клеток приведены на прилагаемых рисунках 8 и 9, сделанных нами с помощью микроскопа с натуры, т.-е. с препаратов, приготовленных из культур.

Лимфоциты могут в культурах значительно увеличиваться в объеме и превращаться в полибласты. Последние, в свою очередь, при известных условиях образуют заостренные отростки, прекращают амебoidalное движение и делаются неотличимыми от настоящих фибробластов.

Поэтому в культурах можно видеть всевозможные переходные формы между этими видами клеток.

Наоборот, некоторые другие амебoidalные элементы, к которым, напр. относятся так называемые зернистые лейкоциты, представляющие из себя особую разновидность белых кровяных клеток, ни к каким превращениям в культурах не способны. Они отличаются присутствием в их протоплазме многочисленных правильных зернышек и сильно перешнурованными на две или несколько частей ядрами. Эти клетки в первые дни после посева могут оживленно ползать, выпуская псевдоподии, но затем быстро вымирают. Встречаются они в культурах соединительной ткани взрослых животных.

Красные кровяные тельца, попадающие в культуру, также умирают довольно скоро, распадаясь и растворяясь без остатка или предеясь полибластами, которые их переваривают в своей протоплазме.

Кроме соединительной ткани, по тому же типу может расти и мышечная ткань, культуры которой однако до сих пор изучены еще очень мало.

Мышечная ткань состоит из особых мышечных клеток, обладающих способностью сокращаться, и представляет из себя ткань движения. Отдельные мышечные клетки при нормальных условиях соединены друг с другом тонкими прослойками соединительной ткани, которая их окутывает со всех сторон. Различают три вида мышечной ткани: гладкую, сердечную и поперечно-полосатую скелетную. Проще всего устроена гладкая мышечная ткань, входящая в состав внутренних органов как, наприм., стенка кишечника, кровеносных сосудов и проч. Она состоит большей частью из вытянутых в длину веретенообразных клеток, с палочковидными ядрами, по одному в каждой клетке, в цитоплазме которых проходят, по длиннику клетки, многочисленные тончайшие сократимые волокна, так назыв. миофибриллы. При своем сокращении миофибриллы укорачиваются и утолщаются, обуславливая этим укорочение и утолщение всей клетки. Сокращения гладких мышц отличаются своей медленностью и часто бывают ритмичными, т. е. повторяются через одинаковые промежутки времени.

Поперечно-полосатые мышцы, наоборот, обладают способностью быстро и резко сокращаться. Построены они из отдельных тонких и очень длинных волокон, представляющих из себя особым образом измененные клетки с многочисленными ядрами и миофибриллами в цитоплазме. Миофибриллы поперечно-полосатых мышц отличаются той особенностью, что состоят из тонких, чередующихся слоев двух разных веществ, которые сложены друг с другом на подобие очень длинного столбика монет. Такое строение обуславливает поперечную исчерченность каждой отдельной миофибриллы и вместе с тем всего мышечного волокна.

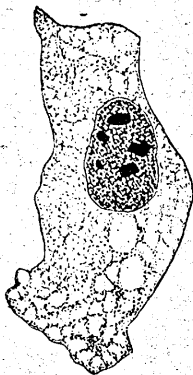


Рис. 9. Большая амебодная клетка — парамеция. В цитоплазме видны вакуоли. (Увеличение в 1.200 раз).

Наконец, сердечная мышца также содержит поперечно-полосатые миофибриллы, но отличается тем, что в ней отдельные клетки соединены друг с другом в сплошную протоплазматическую сеть или синцитий.

По своей функции сердечная мышца занимает среднее положение между гладкими и скелетными мышцами: ее сокращения отличаются быстротой и строгой ритмичностью.

Гладкая мышечная ткань отличается в культурах медленным ростом. Ее клетки могут, наряду с фибробластами, вrostать в питательную среду в виде заостренных веретен с палочковидными ядрами. Напр., в культурах стѐнки мочевого пузыря кролика (Шампи), в состав которой входит и гладкая мышечная ткань, ее рост начинается лишь по истечении 5 дней. Гладкие мышечные клетки зародышей также, повидимому, могут вrostать в питательную среду. Во многих случаях, однако, никакого роста гладких мышц заметить не удается. Они просто умирают через несколько дней после посева.

Зародышевые, еще одноядерные, скелетные мышечные клетки также могут обнаруживать в культурах рост, похожий на рост фибробластов (Берроус). Поперечно-полосатые мышцы взрослых животных вне организма довольно быстро умирают. В их культурах можно видеть лишь рост соединительной ткани, вырастающей из соединительно-тканых прослоек, окружающих умирающие мышечные волокна.

Рост сердечной мышцы также наблюдается лишь на зародышевом материале. В культурах кусочков сердца курного зародыша Берроус и другие видели рост изолированных отростчатых мышечных клеток. Новейшие исследования показали, что такие изолированные мышечные клетки, неотличимые по внешнему виду от фибробластов, в действительности сохраняют свою мышечную природу. При пользовании особым прибором, микроманипулятором, оказалось возможным, наблюдая под микроскопом, раздражать такие клетки электрическим током, который вызывал в них типичные мышечные сокращения.

Предельный срок жизни разных мышечных элементов вне организма еще неизвестен; однако, в некоторых случаях он оказывается довольно значительным.

2. Эпителиальный рост.

У всех позвоночных животных эпителий отличается от соединительной ткани как по своей функции, так и по строению. Он представляет из себя по преимуществу пограничную или покровную ткань, одевающую тело животного со всех сторон (эпидермис кожи) и выстилающую все его полости, прямо или косвенно сообщающиеся с внешним миром (пищеварительная, дыхательная и др. системы) или сообщавшиеся с ним во время зародышевой жизни. Из эпителия же построены железы, представляющие из себя чаще всего системы простых или ветвящихся эпителиальных трубок разной формы: слепых на одном конце, а на другом—соединенных так называемыми протоками непосредственно с внешней средой или с полостями, которые в свою очередь сообщаются с этой последней. Лишь немногие железы у взрослых животных теряют всякую связь с внешней средой и имеют вид эпителиальных тяжей или пузырьков, окруженных со всех сторон соединительной тканью—это так называемые железы с внутренней секрецией. В эпителии железистых органов достигает особенно высокого развития, присущая—вообще говоря—в большей или меньшей степени каждой живой клетке, секреторная или выделительная функция, т. е. способность живой протоплазмы перерабатывать и выделять большую часть в измененном виде поступающие в клетку извне вещества. Благодаря такой секреторной деятельности, в организме вырабатываются разные нужные для него соки, напр. пищеварительные, или выделяются наружу продукты обмена веществ, подлежащие удалению, напр. моча.

Характерной особенностью строения эпителиальной ткани является состав из тесно сплоченных друг с другом той или иной формы клеток, в общем сохраняющих обычную клеточную природу, отсутствие выраженного межклеточного промежуточного вещества и расположение в виде более или менее толстых пластов или слоев, образующих ровную поверхность, скрученных в виде трубок или желобков или изогнутых в виде складок (Максимов). В зависимости от формы клеток и от их взаимного расположения, различают разные виды эпителия. Если клетки эпителиального пласта лежат в один слой, то эпителий называют одно-

слоистым, в противном случае — многослоистым. Если высота эпителиальных клеток значительно превышает их ширину, т.е. они имеют вид столбиков, сидящих своим основанием на подлежащей соединительной ткани, а боковыми сторонами прилегающих друг к другу, то говорят о цилиндрическом эпителии. Если клетки имеют во всех направлениях приблизительно одинаковые размеры, эпителий называют кубическим. Наконец, если клетки имеют вид тонких пластинок, распластанных на подлежащей ткани, то состоящий из них эпителий называют плоским. Если эпителий состоит из многих слоев, то клетки его слоев имеют часто неодинаковую форму. Напр., слой, лежащий непосредственно на соединительной ткани, имеет цилиндрические клетки, а вышележащие слои, с удалением от соединительной ткани, делаются все ниже, пока не станут совершенно плоскими. Такой эпителий называют — по форме клеток наружных слоев — многослоистым плоским.

В виду того, что покровные эпителиальные пласты при нормальных условиях лежат своим основанием на соединительной ткани, а эпителиальные трубки или тяжи железистых органов погружены в нее и окутаны ею со всех или почти со всех сторон, то в культуру при посеве почти всегда попадает вместе с эпителием и соединительная ткань.

Поэтому в некоторых случаях имеющийся в посеянном кусочке эпителий себя ничем не проявляет, так как его совершенно заглушает обычный травовидный рост соединительной ткани, беспорядочно разрастающейся во все стороны. Такие культуры по своему внешнему виду ничем не отличаются от описанных выше культур соединительной ткани.

В других случаях эпителий резко выдает всю картину благодаря своей способности разрастаться сплошными клеточными пластами или тяжами, продвигающимися по плотному субстрату — фибрину или подлежащей соединительной ткани. Попадающая в культуру вместе с соединительной тканью частица эпителиального пласта обыкновенно начинает во все стороны продвигаться по поверхности посеянного кусочка, постепенно ее обростая. При этом прилегающая к наружной поверхности эпителия часть свернувшейся плазмы начинает разжижаться, вследствие чего в плотной среде рядом с кусочком, образуется большей или меньшей величины полость, наполненная жидкостью. Так как клетки

могут в культурах расти только там, где имеется налицо какая-нибудь плотная опора, то внутрь такой полости уже ничего врости не может. С другой стороны кусочка, где соединительная ткань не покрыта эпителием и граничит с неразжиженной частью среды, одновременно с этим начнется уже знакомый нам травовидный рост, который распространяется до границы полости разжижения. В этом месте соединительно-тканые клетки обыкновенно соединяются в пласты, которые начинают обрастать стенку полости, продвигаясь по неразжиженной части фибрина и давая в него копьевидные выросты. В результате такая культура принимает очень характерный вид, изобразивший на прилагаемой схеме (рис. 10) в разрезе. Выросты соединительной ткани препятствуют дальнейшему обрастанию поверхности кусочка эпителием, который, оставая ее, продолжает продвигаться по стенке полости, прямо по фибрину или по разошедшейся соединительной ткани. Через несколько дней после посева противоположные края эпителиальных пластов могут встретиться, замкнув полость со всех сторон.

Если скорость роста эпителия больше и разжижение прилегающего фибрина происходит быстрее, то соединительная ткань может успеть вкорениться в фибрину лишь на очень незначительной части поверхности кусочка, который со всех сторон оказывается покрытым ровным слоем эпителия (рис. 11).

Наконец, в некоторых случаях соединительная ткань вообще не успевает прорасти; посеянный кусочек оказывается

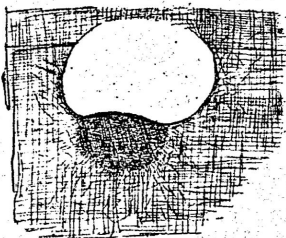


Рис. 10. Смешанный рост культуры. Эпителий растет пластом, покрывая верхний край кусочка и стенку полости разжижения (незаштрихованный участок). В не покрытых эпителием местах—разрастание соединительной ткани. Эпителиальный пласт представлен в поперечном разрезе в виде черной полоски. (Слабое увеличение).

со всех сторон покрытым эпителием (рис. 12) и большую часть свободно плавает в жидкости.

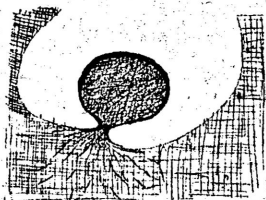


Рис. 11. Такая же культура. Эпителий покрыл почти всю поверхность кусочка и образовал вокруг него полость разжижения. Соединительная ткань проросла только в одном месте (снизу). (Слабое увеличение).

ванию широких пластов, то эпителий может вырастать в виде плотных тяжей клеток, которые все дальше продвигаются в питательную среду, окруженные копьевидными фибробластами.

Группы эпителиальных клеток могут при своем росте совершенно отделяться от общей массы эпителия и превращаться в равной формы и величины островки, разбросанные среди рыхлой соединительно-тканной сети. Наконец, могут встретиться и совершенно изолированные эпителиальные клетки, звездчатой или закругленной формы.

Таким образом, при совместном культивировании с соединительной тканью рост эпителия может иметь довольно разнообразный характер. Большой частью его клетки сохраняют свою способность к плотному соединению друг с другом, образуя различные пласты, тяжи или

Такие покрытые эпителиями кусочки могут при пересевах сохраняться долгое время живыми, несмотря на полное отсутствие роста.

В культурах кусочков железистых органов также могут наблюдаться довольно разнообразные виды роста (рис. 13). Из эпителиальных железистых трубок часто вырастают сплошные клеточные пласты, покрывающие на большем или меньшем протяжении поверхность кусочка или внедряющиеся в фибрилл. Если разрастающаяся одновременно соединительная ткань мешает образова-

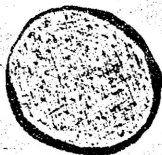


Рис. 12. Культура, покрытая со всех сторон разросшимся пластом эпителия. Полное отсутствие роста соединительной ткани. (Слабое увеличение).

островки, резко отличающиеся от рыхло связанных клеток соединительной ткани (рис. 13).

В чистых культурах эпителия, которые удается получить в некоторых случаях, в общем наблюдаются такие же явления. Помещенный в питательную среду кусочек эпителиального пласта, осторожно срезанный с подлежащей ткани, иногда не обнаруживает никакого роста, а скручивается своими краями, образуя маленький эпителиальный пузырек. В противном случае из него вырастают сплошные пласты, тяжи и островки, а также, в сравнительно небольшом количестве, отдельные эпителиальные клетки, которые впоследствии могут снова соединяться вместе в сплошные скопления.

Изолированные эпителиальные клетки по своей внешней форме походят на фибробласты или на амебOIDные клетки соединительной ткани, но отличаются от них обыкновенно по своему тончайшему строению и по способности вновь вступать друг с другом в типичную для эпителия тесную взаимную связь.

Наиболее длительные культуры эпителия, полученные до сих пор, росли вне организма до восемнадцати месяцев. Такой срок однако, по видимому, не является для него предельным.

Первоначальная структура эпителия подвергается при его разрастании вне организма различным изменениям. Однослойный цилиндрический и кубический эпителий у края продвигающегося пласта делается плоским. В многослойном эпителии с приближением к краю пласта число слоев уменьшается,

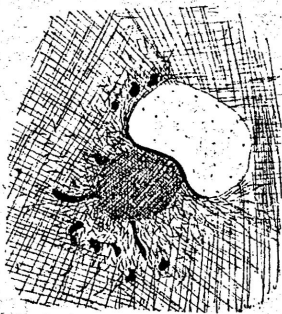


Рис. 13. Схема культуры железистого органа. Эпителий разрастается пластом по краю кусочка, разжижая прилегающий фибрин, и образует разной формы тяжи и островки среди растущей соединительной ткани. (Слабое увеличение).

доходя до одного. С другой стороны, однослойный эпителий может путем перестройки превратиться в многослойный. Пласты, вступающие в фибриллы, обыкновенно очень тонки и состоят лишь из одного слоя плоских клеток, вытянутых в длину и плотно прилегающих друг к другу.

Клетки, входящие в состав тяжей или островков, могут иметь различную форму — многогранную, веретенообразную или плоскую.

Вообще изучение культур показывает, что форма клеток самым тесным образом зависит от их взаимного расположения и от внешних условий.

3. Нервный рост.

Строение нервной ткани, являющейся высокоспециализированной тканью раздражения, очень своеобразно. Она состоит из особых клеток, нервных клеток, большей частью отличающихся своей значительной величиной, от тела которых отходят один или несколько сложно ветвящихся отростков. Отростки нервных клеток имеют микроскопическую толщину и очень значительную длину, достигающую у крупных животных нескольких десятков сантиметров. Тело нервных клеток находится чаще всего в центральной нервной системе, головном и спинном мозгу, а также в особых нервных узлах, разбросанных в разных частях тела. Отростки нервных клеток или также лежат в центральной нервной системе, соединяя друг с другом равные ее части, или входят в состав нервных стволов, как нервные волокна, соединяющие нервные центры со всеми другими частями тела. Нервные волокна служат для проведения раздражений, возникающих в каком-нибудь месте организма.

Нервные клетки и их отростки бывают при нормальных условиях одеты особой поддерживающей тканью, нейроглией, которая у зародышей развивается из того же самого зачатка, что и сами нервные клетки.

Рост, наблюдающийся в культурах кусочков центральной нервной системы, например — коры мозга, мозжечка и других, а также их зачатков у зародышей, имеет очень характерный вид.

Уже в течение первых суток после посева в окружающую кусочек плазму начинают вырастать тонкие нити, постепенно

увеличивающиеся в длину и снабженные на конце булавовидным утолщением (рис. 14).

Эти пили оказываются ничем иным, как нервными волокнами, которые берут начало из находящихся в кусочке нервных клеток и представляют собой нитевидные отростки их протоплазматического тела. Некоторые из нервных клеток могут при посеве случайно



Рис. 14. Вырастающие из посеянного кусочка нервные волокна. Культура коры мозга собаки через 24 часа после посева. Увелич. ок. 70 раз. (По Ингебригтсену).

отделиться от общей массы ткани и оказаться рядом с кусочком в питательной среде. В таких случаях удается проследить процесс образования нервного волокна во всех его подробностях. На рисунке (рис. 15) изображена такая изолированная нервная клетка с растущим из нее нервным волокном, которое на своем конце начинает ветвиться. Если волокна вырастают из кусочка в большом количестве, то они могут, ветвясь и сплетаясь беспорядочно друг с другом, образовать вокруг кусочка густой войлок.

Такие культуры оказываются, однако, недолговечными; они погибают обыкновенно уже через несколько дней, несмотря на пересевы.

Рис. 15. Нервная клетка с образовавшимся из нее нервным волокном, которое ветвится на конце. 48-часовая культура мозга куриного зародыша. Увелич. ок. 700 раз. (По Ингебригтсену).

Что касается до опорной составной части нервной ткани, нейроглии, то она, по видимому, может расти в культурах по соединительно-тканному типу в виде отдельных веретенообразных клеток или рыхлых клеточных тяжей.

Вышеописанный рост удастся наблюдать вне организма, как в зародышевой, так и во взрослой нервной ткани различных животных — лягушек, кур, кроликов, собак.

IV.

Другие проявления жизни в тканевых культурах.

Рост и передвижение клеток является безусловно самым первым, прежде всего бросающимся в глаза, проявлением жизни тканой вне организма. Поэтому он и был нами описан в первую очередь. Ведь и в обычной жизни живое обыкновенно отличается от неживого по его способности к самостоятельному движению. Кроме движения, связанного с переменной места, в тканевых клетках можно наблюдать вне организма и многие другие, связанные с их жизнью, явления—размножение, сокращение, процессы обмена веществ и прочее.

1. Размножение клеток в культурах.

Рост тканевых культур зависит большую частью не только от передвижения разрастающихся клеток, но и от их увеличения в количестве, от размножения. К размножению вне организма оказались способными не только зародышевые клетки, которые и при нормальных условиях очень энергично размножаются и обуславливают, поражающий своей быстротой, рост зародышей животных, но и клетки многих взрослых тканей, утратившие эту способность в целом организме. Под влиянием новых условий существования, к клеткам возвращаются потерянные ими с возрастом особенности; происходит их омоложение. В то время, как в культурах зародышевых тканей энергичное размножение клеток можно наблюдать тотчас после посева, в культурах взрослых тканей оно начинается не сразу, а по истечении некоторого промежутка времени. Вначале делятся лишь немногие клетки; постепенно, однако, энергия размножения увеличивается очень значительно, и после нескольких пересевов быстрота роста и размножения в культурах некоторых взрослых тканей может сделаться почти такой же, как у зародышей.

Способность к размножению возвращается вне организма ко многим клеткам соединительной ткани, эпителию, гладким мышцам и нейроглии, но отнюдь не к нервным и поперечно-полосатым мышечным клеткам. Эти последние, как наиболее сложно организованные и высоко-специализированные, со-

ставные части животного организма, до сих пор не удалось побудить к размножению вне организма. Повидимому, способность к нему ими утрачена безвозвратно.

Размножение клеток происходит в культурах в огромном большинстве случаев посредством непрямого или карпокинетического деления (рис. 16—18), которое, в самых общих чертах, состоит в следующем: ядерное вещество собирающейся делиться клетки распадается на определенное для каждого вида животного число большею частью изогнутых палочко-видных образований, так наз. хромосом, которые вследствие исчезновения ядерной оболочки оказываются свободно лежащими в протоплазме клетки. Каждая из хромосом расщепляется вдоль на две половинки, которые расходятся к двум противоположным сторонам клетки. Вместе с тем тело клетки постепенно растягивается и, наконец, перешнуровывается на две части таким образом, что в каждой из получившихся двух клеток оказывается по кучке хромосом, которые, сливаясь вместе и окружаясь вновь оболочкой, образуют ядра обеих дочерних клеток. В результате такого деления, каждое дочернее ядро получает

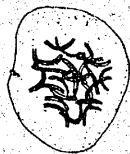


Рис. 16. Схема карпокинетического деления клетки. — Ядро распалось на хромосомы, расщепившиеся вдоль.



Рис. 17. Расхождение хромосом.

половину вещества каждой материнской хромосомы. Весь процесс деления клетки удается с большой отчетливостью проследить, наблюдая живую культуру под микроскопом. Время, нужное для этого, зависит от внешних условий, например температуры, и оказывается для разных клеток неодинаковым.

Деление соединительно-тканых клеток кошки при 37° Цельсия продолжается в культурах от 15 до 30 минут, а деление клеток соединительной ткани крысы при той же температуре—от 25 до 45 минут.

Перед началом деления клетки втягивают в большей или меньшей степени свои отростки и принимают закругленную форму.

После деления обе дочерние клетки вскоре уже ничем не отличаются от соседних клеток.

Кроме такого способа деления каркинезом, который является самым распространенным видом размножения клеток как при нормальных условиях в целом организме, так и в тканевых культурах, в некоторых случаях удается наблюдать в растущих вне организма

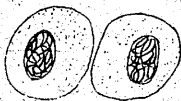


Рис. 18. Клетка разделась на 2 дочерние клетки; из хромосом восстанавливаются ядра. (Сильное увеличение).

тканях и так называемое прямое деление, или амитоз. Оно происходит гораздо проще, без всяких заметных явлений перестройки в клеточном ядре. Ядро при этом просто перетягивается, а затем совершенно перешнуровывается на две более или менее равные части. Вслед за делением ядра обычным способом делится и протоплазма. Такой вид деления был, например, описан Футом в культурах костного мозга, Шампй—

в культурах почки и рядом других авторов—в культурах самых разнообразных тканей. В некоторых случаях, однако, прямое деление ядра не влечет за собой деления всей клетки. Тогда в результате амитоза в культурах могут возникать двух и многоядерные клетки (рис. 19—22). Многоядерные клетки могут, как мы уже видели, возникать и другим способом — вследствие слияния нескольких клеток вместе.

Образование новых клеток, главным образом—путем непрямого деления, имеет своим результатом значительное увеличение массы ткани в культурах. Поэтому, если культура очень сильно разрослась, ее при пересеве разрезают на две или несколько частей, которые сеются отдельно. Таким образом, в результате десятилетнего культивирования, в лаборатории Каррея было получено свыше 30.000 культур из кусочка ткани, имевшего первоначально меньше одного кубического санти-

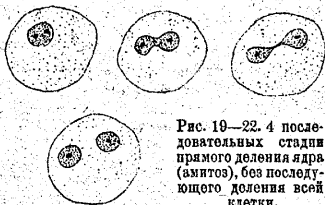


Рис. 19—22. 4 последовательных стадии прямого деления ядра (амитоз), без последующего деления всей клетки.

метра в объеме! По данным Ибелинга, в таких многолетних культурах объем ткани удваивается приблизительно через каждые 48 часов. Это с несомненностью указывает на огромную интенсивность процессов обмена веществ в растущих вне организма тканях.

2. Мышечные сокращения в культурах.

Кроме движения клеток, связанного с их разрастанием, в культурах удается видеть еще один вид движения—самопроизвольные мышечные сокращения. Лучше всего их наблюдать в культурах кусочков сердца зародышей. Такие кусочки могут при пересевах продолжать очень долго пульсировать вне организма. Напр., Каррелю удалось наблюдать ритмические сокращения кусочков сердца семидневного куриного зародыша в течение 104 дней. Частота таких сокращений зависит в значительной степени от возраста зародыша, служившего для приготовления культуры, и от того, какая часть сердца была посеяна.

По данным Берроуса, кусочки сердца 3—6-дневных куриных зародышей пульсируют обыкновенно со скоростью 50—120 ударов в 1 минуту. По наблюдениям того же автора, сокращаться могут не только посеянные кусочки целиком, но и отдельные, выросшие из него в окружающую плазму; мышечные клетки. Так например, он описывает, что в одной из культур ему удалось видеть веретенообразную клетку, расположенную вдали от посеянного кусочка, которая двигалась и, в то же самое время, ритмически сокращалась. Кроме того, как мы уже упоминали, удается вызывать сокращение изолированных мышечных клеток, раздражая их электрическим током.

Кроме самостоятельного биения кусочков сердца, в культурах описывалось также сокращение гладких мышц: напр., Лемберт и Гейне видели в культурах кусочков кишечника куриного зародыша медленные перистальтические сокращения, которые очень характерны для гладкой кишечной мускулатуры и служат при нормальных условиях для передвижения пищи вдоль пищеварительного тракта.

Что касается до мышечных элементов взрослых животных, то они, повидному, вне организма к самопроизвольным сокращениям не способны. По крайней мере, в тканевых культурах их сокращения до сих пор не наблюдались.

3. Выделительная функция клеток в культурах.

Всякая живая клетка, как известно, в течение своей жизни выделяет наружу различные продукты обмена веществ. Такого рода элементарную выделительную функцию, разумеется, не приходится отрицать и в жизнеспособных культурах, где клетки, без сомнения, питаются, растут и размножаются, а, следовательно, и выделяют продукты обмена.

При введении в целый организм, минуя пищеварительный тракт, т.е. под кожу или прямо в кровь, некоторых веществ белковой природы, удается установить появление в крови особых тел, вырабатываемых тканевыми клетками в ответ на раздражение введенным в организм веществом. Такие тела вырабатываются, напр., в организме при заражении его какими-нибудь бактериями и служат для борьбы с заразой. Часто наблюдающаяся невосприимчивость ко вторичному заражению после перенесенного однажды заболевания, так называемый иммунитет, большей частью зависит от присутствия в крови особых тел, вредных для тех бактерий, которые вызвали перенесенное заболевание. Если смешать сыворотку крови животного, невосприимчивого к какому-нибудь виду бактерий, с чистой культурой этих бактерий, то можно заметить различные явления. Очень часто, под влиянием такой сыворотки, тела бактерий растворяются, в других случаях — бактерии склеиваются вместе и теряют свою подвижность — последнее явление носит название агглютинации. При этом способность растворять или агглютинировать бактерии сказывается и при разведении сыворотки во много десятков, а иногда и сот раз. Культура бактерий может, таким образом, служить реактивом на присутствие в крови таких особенных веществ. Кроме бактерий, появление в крови таких тел, называемых анти-(т.е. противо-) телами, может быть вызвано введенным опытному животному различных чужих клеток. Напр., при введении кролику или морской свинке в вену красных кровяных телец барана, в его крови появляются особые вещества, обладающие способностью разрушать бараньи кровяные клетки. По господствующему мнению, главным местом выработки антител являются костный мозг, селезенка и некоторые другие органы, находящиеся в тесной связи с кровеносной системой.

Оказывается, что тканевые клетки, растущие вне организма, также способны вырабатывать такие антитела. Чтобы доказать образование в культурах тел, разрушающих красные кровяные тельца, Каррелем и Ингебригтсеном были поставлены следующие опыты. Эти ученые приготовили культуры из костного мозга морской свинки, к части которых прибавили эритроциты козы. Такие культуры прекрасно росли. Через три дня можно было наблюдать энергичное поедание растущими подбластиами эритроцитов. На 4-й или 5-й день после посева из культур была посредством замораживания приготовлена жидкость, которая оказалась способной разрушать эритроциты козы. В то же самое время жидкость, приготовленная из чистых культур костного мозга, к которым эритроциты не были прибавлены, такими свойствами не обладала. Этот факт с несомненностью показывает, что, под влиянием раздражения чужими кровяными клетками, растущая вне организма ткань может вырабатывать настоящие антитела.

Сходным образом Пшигоде было доказано образование в культурах селезенки кролика веществ, агглютинирующих тифозные бактерии.

Здесь же следует упомянуть, что в последнее время удалось получить (Фишеру в лаборатории Карреля) явление иммунитета, привыкания к чужеродному белку, пользуясь девятилетними культурами соединительной ткани куриного зародыша. Прибавление инородной белковой жидкости, напр. сыворотки собаки, к питательной среде в небольшом количестве (около 7%) не оказывает заметного влияния на рост таких культур. Прибавление той же жидкости в количестве 50% оказывает вредное действие и резко замедляет рост культур, которые росли раньше в чистой плазме. Те же культуры, которые в течение некоторого времени культивировались в среде с 7% собачьей сыворотки, оказались нечувствительными к прибавлению 50% той же жидкости к питательной среде.

Все эти опыты показывают, что жизнедеятельность растущих вне организма клеток может быть изменена соответствующими воздействиями в разных направлениях.

Совершенно иначе обстоит, однако, дело со специфической секреторной деятельностью железистых эпителиальных клеток, которая для них характерна при нормальных условиях.

Процесс секреции склывается обыкновенно на структуре клетки, при наблюдении под микроскопом, в виде появления в ее протоплазме особых зернышек. Эти зернышки и есть не что иное, как вырабатываемый протоплазмой секрет, который затем удаляется из клетки наружу и при нормальных условиях вытекает через выводной проток железы. В культурах нормальная секреция железистых клеток постепенно ослабевает и в конце концов совершенно прекращается. Вследствие этого, живущие вне организма железистые эпителиальные клетки теряют свою специальную, связанную с функцией, структуру и подвергаются значительному упрощению. С другой стороны, они вновь приобретают утраченную ими в целом организме способность к размножению и росту. Таким образом, в условиях тканевых культур место специальных, нужных целому организму функций заступают более элементарные самостоятельные жизненные процессы, приуроченные к новым условиям существования.

Такое же упрощение мы видим и в культурах разных видов соединительной ткани. Образование растущими соединительно-тканевыми клетками нового промежуточного вещества в культурах до сих пор никто не доказал. Наоборот, все имеющиеся до сих пор факты говорят против такой возможности. Более того, в культурах, как правило, можно бывает наблюдать постепенное исчезновение, рассасывание старого промежуточного вещества, напр. волокон соединительной ткани, промежуточного вещества хряща.

Поэтому, собственно говоря, все растущие вне организма клетки не могут быть приравнены к каким-либо клеткам нормального организма; клетки тканевых культур суть клетки, особым образом измененные, чаще всего — упрощенные, приуроченные к ненормальным условиям существования. В некоторых случаях так же измененные в культурах клетки оказываются сходными по своим свойствам с клетками, представляющимися в целом организме при разных болезненных процессах, напр., при воспалении.

4. Развитие в культурах зародышевых зачатков.

Как ни характерно для тканевых культур упрощение имеющихся в них клеток, оно наблюдается в них не всегда. В некоторых случаях, в особенности при культивировании

частиц развивающихся органов зародышей, можно бывает заметить как раз обратное явление—продолжение нормального развития и связанное с ним усложнение первоначального строения.

Пока еще трудно сказать, как далеко такое развитие сможет продолжаться вне организма. Вероятнее всего, на его ходе с течением времени отразятся новые условия жизни, в результате чего появятся различные ненормальные отклонения и искажения. Как бы то ни было, но в первые дни и даже недели после посева было констатировано развитие канальцев почки в культурах частиц ее зародышевых зачатков. В культурах кусочков кишечника зародыша кролика наблюдалось развитие вне организма зачатков кишечных ворсинок.

Кроме культур кусочков разных зародышевых органов, были также сделаны попытки помещать в условия тканевой культуры целые очень молодые зародыши (курицы или кролика) и наблюдать под микроскопом их развитие. При таких условиях удается, например, видеть развитие кровеносной системы зародыша и сердца.

Последнее развивается буквально на глазах исследователя и начинает правильно биться, в результате чего у зародыша устанавливается нормальное кровообращение. Все эти явления обнаруживаются очень быстро, в течение нескольких часов.

5. Применение тканевых культур для некоторых специальных целей.

Кроме изучения жизни тканей вне организма при возможно лучших для них условиях существования, тканевыми культурами пользуются также для изучения влияния на иволированные ткани различных ненормальных воздействий.

Для этой цели к питательной среде прибавляют различные вещества, культуры подвергают воздействию ненормальной температуры и тому подобное. Живые, растущие в культурах ткани можно также искусственно заражать разными болезнетворными бактериями и вызывать подобие заболевания в отделенных от организма клетках. Такие попытки были сделаны по отношению к туберкулезу, тифу, сифилису и некоторым другим болезням.

Известный практический интерес имеет также сравнительное изучение стойкости тканевых клеток и разных бактерий по отношению к химическим веществам. При этом оказывается, что к яду тканевые клетки более стойки, чем бактерии. Прибавление маленьких количеств одной фиолетовой анилиновой краски, называемой генцианой, задерживает рост бактерий, оставаясь без всякого заметного влияния на изолированную ткань.

Уже довольно давно было известно, что некоторые искусственные краски настолько безвредны, что могут быть в значительных количествах введены в кровь животным, напр. кармин, трипанблау и др. Такие животные оказываются в результате прижизненно-окрашенными.

Прижизненная окраска зависит от того, что многие клетки захватывают прижизненно-красящее вещество и накапливают его на своей протоплазме в виде особых, большую часть ярко окрашенных зерен. Тканевые культуры дают возможность наблюдать процесс прижизненной окраски так, как он происходит в действительности, непосредственно под микроскопом. Если к питательной среде прибавить немного раствора такой безвредной краски, то можно видеть, как в растущих тканевых клетках постепенно накапливаются окрашенные зерна, форма и величина которых в значительной степени зависят от вида клетки. Такое накопление зерен краски является еще одним, очень характерным для многих клеток, проявлением жизнедеятельности.

V.

Значение метода тканевых культур.

В предыдущих главах мы в самых общих чертах познакомились с некоторыми фактическими данными, полученными с помощью метода тканевых культур. Во многих отношениях эти данные еще очень не полны и отрывочны; этому, однако, не следует удивляться, так как со времени открытия метода Гаррисоном прошло еще только 17 лет. За такой короткий срок, однако, тканевые культуры дали возможность подойти к изучению жизнедеятельности различных частей сложных многоклеточных организмов с совершенно новой стороны и в сравнительно очень простых условиях, при которых оказываются

исключенными разнообразными нервными и химическими влияниями всех других органов. Однако, такая упрощенная постановка опытов является одновременно и положительным качеством и недостатком изучения тканей вне организма. Уже одно отсутствие нормального кровообращения резко меняет условия существования тканевых частиц в культурах. Не могут оказаться также без большого влияния на них и все связанные с приготовлением культур процедуры, во время которых ткань неизбежно подвергается самым разнообразным внешним воздействиям довольно случайного характера.

Наконец, качество и состав питательной среды, в частности плазмы крови, могут в разных опытах быть неодинаковыми, так как зависят от особенностей опытного животного, служащего для добывания крови. Однако, несмотря на такие непорочные условия существования, в культурах тем не менее оказывается возможным проявление довольно разнообразных жизненных функций, свойственных каждой жизнеспособной клетке—рост, движение, размножение и тому под. Наоборот, для проявления целого ряда специальных функций высшего порядка, целый организм является, по видимому, совершенно необходимым. Их существование неразрывно связано с тесным взаимоотношением всех клеток и органов животного, подчиненных нуждам целого организма.

Изучение в целом организме специальных жизненных функций и яркое их выявление в культурах более элементарных, самостоятельных проявлений жизни тканевых клеток естественным образом дополняют друг друга.

Приложение метода тканевых культур к самым разнообразным отраслям науки о жизни—биологии—должно во многих отношениях углубить наши знания и открыть ему новые перспективы.

О Г Л А В Л Е Н И Е.

	Стр.
Переживание органов.	
Введение	5
I. Исследование изолированного сердца	7
1. Изолированное сердце лягушки (8).—2. Исследование на изолированном сердце лягушки действия лекарств и ядов (13).—3. Изолированное сердце кролика и кошки (17).	
II. Исследование сосудов изолированных органов	27
III. Переживание гладкомышечных органов	36
IV. Искусственное питание мозга	42
V. Изолированные органы внутренней секреции	45
VI. Изолированные органы человека	47
1. Оживление органов (47).—2. Изолированное сердце человека (49).—3. Исследование сосудов изолированных органов человека (52)	
Заключение	59
Культура тканей вне организма.	
I. Исторический очерк	63
II. Современная методика опытов с тканевыми культурами	68
III. Жизнь тканевых культур и различные виды их роста	73
1. Соединительно-тканевый рост (75).—2. Эпителиальный рост (83).—3. Нервный рост (88).	
IV. Другие проявления жизни в тканевых культурах	90
1. Размножение клеток в культурах (90).—2. Мышечные сокращения в культурах (93).—3. Выделительная функция клеток в культурах (94).—4. Развитие в культурах зародышевых зачатков (96).—5. Применение тканевых культур для некоторых специальных целей (97).	
V. Значение метода тканевых культур	98

