

Манин

ПРОФ. П. П. АВРОРОВЪ И А. Д. ТИМОФЕЕВСКІЙ.

ОПЫТЫ

КУЛЬТИВИРОВАНІЯ ТКАНЕЙ

ВНѢ ОРГАНИЗМА.

ТОМСКЪ.

Типо-литографія Сибирск. Т—ва Печатн. Дѣла, уг. Дворянск. и Ямск. пер., с. д.

1914.

3.4.20

1-535624к

Том. чф

Авроров П .П.,
Тимофеевский .Д.
Опыты культивирования
тканей вне организма.
1914

ПРОФ. П. П. АВРОРОВЪ И А. Д. ТИМОФЕЕВСКИЙ.

Глубокоуважаемому
Василью Васильевичу
Сапожникову.

отъ авторовъ.

№. 1914.

ОПЫТЫ

КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ТКАНЕЙ

ВНѢ ОРГАНИЗМА.

ТОМСКЪ.

Типо-литографія Сибирск. Т—ва Печати. Дѣла, уг. Дворянск. и Ямск. пер., с. д.

1914.



ВТОМ II. СЕРИЯ I. А. Д. ЛАНДОВСКИЙ

ОПЫТЫ

КАПИТАЛИЗМА И ТРАД

И. П. ЛАТАНОВА

ТОМ II



ОПЫТЫ КУЛЬТИВИРОВАНІЯ ТКАНЕЙ ВНѢ ОРГАНИЗМА.

Проф. П. П. Авророва и лаборанта А. Д. Тимофеевскаго.

Среди многихъ открытій начала XX-го столѣтія особенно видное мѣсто въ области естествознанія занимаетъ найденный *A. Carrel*'емъ и *M. Burrows*'ымъ способъ культивированія тканей и органовъ высшихъ животныхъ внѣ организма.

Высшіе животные организмы, по установившимся взглядамъ, представляютъ собой сложныя колоніи клѣтокъ, крайне дифференцированныхъ и приспособленныхъ къ выполненію самыхъ разнообразныхъ функций. Въ противоположность простѣйшему одноклѣточному организму, обладающему способностью исполнять все необходимое для поддержанія самостоятельной жизни отправления, —отдѣльныя клѣточки или колѣніи клѣтокъ высшаго животнаго организма, въ силу постепеннаго приспособленія къ условіямъ существованія, въ силу разнообразной дифференцировки формы и функции клѣтокъ, въ силу высокой спеціализаціи и раздѣленія труда между различными тканями,—въ значительной степени утрачиваютъ свою самостоятельность. Достигая высокаго совершенства въ выполненіи какой-либо одной опредѣленной работы, клѣтки и ткани высшихъ организмовъ взамѣнъ того теряютъ способность къ разнообразію функций и потому становятся въ зависимое положеніе другъ отъ друга. Такія дифференцированныя ткани, какъ напр., нервная, мышечная или железистая, могутъ выполнять свои функции во всемъ ихъ совершенствѣ лишь при условіи полной гармоніи отправленій всехъ другихъ тканей и органовъ сложнаго индивидуума.

Поэтому въ организмѣ высшихъ животныхъ жизнь каждой клѣточки, каждой ткани и cadaго органа стоитъ въ самой тѣсной и разнообразной зависимости отъ жизни и дѣятельности всехъ другихъ клѣточекъ, тканей и органовъ. Прекращеніе функции одного органа или ткани можетъ отзываться самымъ неблагоприятнымъ образомъ на жизни и дѣятельности всехъ остальныхъ. Такъ,

прекращеніе функціи органовъ дыханія или кровообращенія ведетъ къ быстрой смерти всего организма, со всеми клѣтками и тканями, входящими въ его составъ. Прекращеніе притока крови къ ограниченному участку тѣла, при инфарктѣ напр., быстро вызываетъ омертвѣніе даннаго участка.

Въ силу указанной зависимости клѣточекъ и тканей другъ отъ друга, самостоятельное существованіе ихъ, внѣ связи съ материнскимъ организмомъ, представлялось невозможнымъ. Казалось совершенно невѣроятнымъ, чтобы группа клѣтокъ, отдѣленныхъ отъ материнской почвы, могла самостоятельно жить и даже размножаться. И тѣмъ не менѣе человѣческій гений съ несомнѣнностью доказалъ возможность такого существованія. Теперь найдены тѣ условія, при которыхъ жизнь отдѣленныхъ отъ организма кусочковъ тканей или органовъ можетъ продолжаться въ теченіе долгаго времени и проявляться видимымъ образомъ въ ростѣ и размноженіи клѣтокъ.

Указанія на сохраненіе жизни въ теченіе нѣкотораго времени въ отсѣченныхъ органахъ и тканяхъ имѣлись и въ прежнее время. Такъ, сравнительно давно было извѣстно, что отдѣленные отъ организма кусочки тканей и органовъ могутъ снова прижить, если ихъ фиксировать на прежнемъ или даже на новомъ мѣстѣ. Пересадка эпидермиса, кожи, кости, надкостницы и пр. давно уже получила право гражданства въ хирургіи. Познѣе, въ опытахъ на животныхъ оказалось возможнымъ дѣлать пересадку даже цѣлыхъ органовъ, какъ напр., щитовидной железы, яичника, почки и т. д. отъ одного животнаго другому животному того же вида. Подобныя пересадки получили особенный интересъ послѣ того, какъ при помощи сосудистаго шва оказалось возможнымъ возстановлять кровообращеніе въ пересаженномъ органѣ. Во всѣхъ этихъ опытахъ пересаженная ткань оказывалась приблизительно въ такихъ же условіяхъ питанія, въ какихъ она находилась въ своемъ материнскомъ организмѣ. При пересадкѣ органовъ отъ животнаго одного вида животному другого вида обычно приживленія не наблюдалось: пересаженная ткань некротизировалась и подвергалась разсасыванію, въ виду значительнаго отклоненія жизненныхъ условій отъ нормы.

Для того, чтобы отдѣленная отъ животнаго ткань прижила, нѣтъ необходимости непременно слѣпить съ пересадкой ея на новое мѣсто: она можетъ сохраняться въ теченіе нѣсколькихъ дней при низкой температурѣ и тѣмъ не менѣе остаться пригоднымъ матеріаломъ для пересадки.

Эта способность тканей и органов сохранять въ теченіе нѣкотораго времени свою жизнь и даже функцію послѣ удаленія изъ организма особенно хорошо изучена на различныхъ изолированныхъ органахъ и главнымъ образомъ на сердцѣ. Сердце, взятое отъ животнаго или отъ человѣка, даже черезъ сутки и болѣе послѣ смерти, при пропусканіи чрезъ его сосуды раствора *Ringer'a* при соответствующей температурѣ, начинаетъ сокращаться и бьется иногда въ теченіе нѣсколькихъ сутокъ. Печень, мышца, кишка и т. п. такъ же, какъ и сердце, могутъ въ теченіе нѣкотораго времени функционировать въ изолированномъ отъ организма состояніи. Изъ этихъ послѣднихъ опытовъ съ несомнѣнностью слѣдуетъ, что клѣтки, входящія въ составъ того или другого органа, способны продолжать свою жизнь и функцію въ теченіе нѣкотораго времени, внѣ связи съ организмомъ, если онѣ будутъ поставлены въ благопріятныя условія въ смыслѣ температуры, доставки питательнаго матеріала и удаленія продуктовъ метаморфоза.

Переходъ отъ опытовъ сохраненія и поддержанія жизни въ изолированныхъ органахъ и тканяхъ къ опытамъ *культивированія* тканей внѣ организма представляется намъ теперь совершенно простымъ и естественнымъ. И тѣмъ не менѣе, опыты подобнаго рода были произведены лишь въ самое послѣднее время. Опыты эти дали блестящіе результаты. Въ настоящее время не только доказана возможность продолжительнаго сохраненія жизни кусочковъ органовъ и тканей внѣ организма, но получены *in vitro* настоящія культуры клѣтокъ и тканей съ явленіями энергичнаго роста и размноженія ихъ.

Первое открытіе въ этой области было сдѣлано *Harrison'омъ*¹⁾ въ 1907 году. *Harrison* показалъ, что можно культивировать въ свернувшейся лимфѣ лягушки кусочки центральной нервной системы, взятые отъ зародыша лягушки; при этомъ автору удалось наблюдать непосредственно подъ микроскопомъ развитіе нервныхъ волоконъ.

Въ 1910 году *Burrows*²⁾, подъ руководствомъ *Harrison'a*, сдѣлалъ попытку примѣнить этотъ методъ къ животнымъ теплокровнымъ и получилъ при этомъ положительный результатъ. Свои опыты *Burrows* производилъ надъ тканями куринаго зародыша 60-часового возраста. Для этого *Burrows* разсѣкалъ на мелкія частицы ткань зародыша подъ бинокулярнымъ микроскопомъ при

39°C. и помѣщали кусочки въ кровяную плазму, взятую отъ курицы. Приготовленныя на предметномъ стеклѣ съ углубленіемъ культуры все время сохранялись въ термостатѣ при 39°C. Авторомъ былъ замѣченъ при такихъ условіяхъ значительный ростъ посаженныхъ тканей, именно,—кожи, нервовъ и клѣтокъ мезенхимы. Мышечная ткань на такихъ культурахъ развивалась очень медленно.

О полученныхъ результатахъ *Burrows* сдѣлалъ докладъ въ Парижскомъ біологическомъ обществѣ 22 октября 1910 года. Въ томъ же засѣданіи *Burrows* совмѣстно съ *Carrel*'емъ³⁾ сдѣлалъ 2-е сообщеніе,—о культивированіи тканей отъ взрослыхъ животныхъ внѣ организма.

Работая совмѣстно въ Институтѣ Рокфеллера, *Burrows* и *Carrel* выработали общій методъ, позволяющій культивировать различныя ткани и органы взрослыхъ высшихъ животныхъ и человѣка внѣ организма. Сущность этого метода, по описанію авторовъ, состоитъ въ общихъ чертахъ въ слѣдующемъ. Для посадки берутся маленькіе кусочки различныхъ тканей и органовъ (отъ собакъ и кошекъ). Кусочки помѣщаются въ каплю плазмы, взятой отъ того же животнаго. Плазма наносится на покровное стекло, которое затѣмъ опрокидывается надъ углубленіемъ предметнаго стекла и заливается по краямъ параффиномъ. Препараты помѣщаются въ термостатъ съ температурой 37° C. Авторы пробовали культивировать по этому способу самыя разнообразныя ткани и органы:—соединительную ткань, хрящъ, костный мозгъ, кожу, брюшину, сосудистый эндотелій, селезенку, почку, щитовидную железу, надпочечникъ, яичникъ и лимфатическую железу. Оказалось, что всѣ эти ткани могли расти внѣ организма въ плазматической средѣ. Ростъ ихъ былъ то болѣе, то менѣе обильный, въ зависимости отъ природы тканей, отъ возраста животнаго и отъ многихъ другихъ факторовъ. Первые признаки роста обыкновенно наблюдались между 12 часами и 3 днями послѣ посадки. Чѣмъ моложе было животное, отъ котораго брались ткани, тѣмъ ростъ начинался скорѣе.

По мнѣнію авторовъ, изъ посаженныхъ кусочковъ развиваются двоякаго рода клѣтки: клѣтки связующей основы и клѣтки дифференцированныя, свойственныя опредѣленнымъ органамъ и тканямъ. Первые клѣтки имѣютъ длинную, веретенообразную или отростчатую форму. Онѣ появляются въ культурахъ самыхъ разнообразныхъ органовъ и тканей; быстро размножаются при помощи каріокинеза и могутъ образовать новую ткань. Что касается диф-

ференцированных клѣтокъ, то для каждой ткани онѣ имѣютъ свою специальную морфологію; такъ, посаженный кусочекъ хряща производитъ характерныя хрящевыя клѣтки; кусочекъ железы даетъ эпителиальныя клѣтки; почка—почечный эпителий, клѣтки котораго прорастаютъ въ питательную среду въ видѣ трубокъ.

Послѣ этихъ двухъ краткихъ докладовъ послѣдовалъ цѣлый рядъ новыхъ сообщеній тѣхъ же авторовъ по данному вопросу^{4—7}). Въ этихъ сообщеніяхъ болѣе подробно описываются явленія, наблюдаемыя при выращиваніи внѣ организма кусочковъ опредѣленныхъ органовъ и тканей, именно: почки, костнаго мозга, селезенки, щитовидной железы, саркомы цыпленка *Rous* и саркомы человѣка. Ростъ и размноженіе клѣтокъ въ этихъ культурахъ продолжались отъ 6—7 дней до 16—20. Въ дальнѣйшемъ наступала гибель культивируемыхъ тканей.

Съ цѣлью продлить жизнь клѣтокъ внѣ организма на болѣе значительное время авторами примѣнялись такъ называемыя *первичныя, вторичныя и третичныя культуры*⁸). Первичной культурой они называли прорастаніе кусочка ткани въ первой плазматической средѣ. Вторичной разводкой или культурой—прорастаніе того же кусочка послѣ переноса въ новую, свѣжую питательную среду. Третичная разводка получалась вслѣдствіе переноса той же ткани изъ второй въ третью среду. Для приготовленія вторичныхъ культуръ брались кусочки (щитовидной железы), росшіе уже въ теченіе 5—8 дней на первичной плазмѣ. Оказалось, что на вторичныхъ культурахъ ростъ кусочковъ щитовидной железы былъ значительно сильнѣе, чѣмъ на первичныхъ. Что же касается третичныхъ культуръ, то здѣсь замѣчалось уже рѣзкое паденіе энергіи роста.

Для продленія жизни клѣтокъ, кромѣ описаннаго способа, авторы⁹) прибѣгали еще къ слѣдующему приему, дававшему имъ возможность получить *второе поколѣніе* клѣтокъ. Первоначальный кусочекъ щитовидной железы, давшій хорошій ростъ на культурѣ, удалялся изъ свернувшейся плазмы, а получавшееся на этомъ мѣстѣ углубленіе заполнялось свѣжей плазмой. Въ дальнѣйшемъ наблюдалось вращеніе новообразующихся клѣтокъ съ периферіи препарата, гдѣ оставались молодыя клѣтки, развившіяся въ первоначальной культурѣ,—къ центру препарата, въ ту свѣжую плазму, которая теперь находилась на мѣстѣ бывшаго кусочка. Такимъ образомъ, здѣсь получалось второе поколѣніе молодыхъ клѣтокъ.

По поводу этихъ сообщеній *Carrel*'я и *Burrows*'а выступилъ съ возраженіемъ *Jolly* ¹⁰⁾, который выразилъ сомнѣніе въ дѣйствительности наблюдаемыхъ явленій роста и размноженія клѣтокъ внѣ организма. Онъ старался истолковать наблюдаемыя картины при выращиваніи тканей внѣ организма явленіями доживанія клѣтокъ и постепеннаго некробіоза ихъ. Что касается фигуръ каріомитоза, то онѣ, по мнѣнію *Jolly*, могли случайно оказаться и сохраниться въ посадочномъ матеріалѣ.

Въ отвѣтъ на эти возраженія *Carrel* и *Burrows* ¹¹⁾ доказывали, что въ ихъ опытахъ наблюдается дѣйствительный ростъ и размноженіе клѣтокъ, а не доживаніе или некробіозъ ихъ. Въ подтвержденіе своихъ словъ они представили микрофотографіи съ препаратовъ культуры саркомы. По поводу этихъ микрофотографій *Jolly* ¹²⁾ всетаки высказалъ сомнѣніе въ томъ, что здѣсь имѣется дѣйствительное размноженіе клѣтокъ, а не только разсѣиваніе ихъ по плазмѣ. Цѣлый рядъ дальнѣйшихъ работъ, произведенныхъ главнымъ образомъ *Carrel*'емъ и *Burrows*'ымъ, а также многими другими авторами, какъ *Braus* ¹³⁾, *Hadda* ¹⁴⁾, *Ruth* ^{15—16)}, *Lambert* и *Hanes* ^{17—19)} и др. не оставляютъ въ настоящее время никакого сомнѣнія въ томъ, что отдѣленные отъ организма кусочки органовъ и тканей способны жить и размножаться внѣ организма при совершенно новыхъ для нихъ условіяхъ.

Этотъ новый методъ, позволяющій изучать ростъ и размноженіе клѣтокъ внѣ организма, имѣетъ, несомнѣнно, огромное значеніе. Съ введеніемъ этого метода стало доступно непосредственному опыту и наблюденію всестороннее изученіе условій жизни и роста клѣтокъ высшихъ животныхъ. Теперь выдвигается цѣлый рядъ вопросовъ, могущихъ быть разрѣшенными при помощи этого новаго метода. Такъ, законы роста и размноженія клѣтокъ, особенно злокачественныхъ опухолей, могутъ быть изучены этимъ способомъ съ достаточной полнотой. Въ вопросѣ объ эмбриональномъ развитіи и о гистогенезѣ тѣхъ или другихъ элементовъ изученіе клѣточныхъ культуръ будетъ играть, несомнѣнно, важную роль. Вліяніе различнаго рода физическихъ, химическихъ и биологическихъ агентовъ на ростъ и размноженіе клѣтокъ животнаго организма болѣе доступно изученію на культурахъ, чѣмъ при обычныхъ условіяхъ жизни сложнаго организма. Въ частности, не лишено глубокаго интереса испытаніе въ данномъ направленіи различнаго рода фармакологическихъ веществъ. Изученіе функцій какъ отдѣльныхъ клѣтокъ, такъ и клѣточныхъ колоній и цѣлыхъ органовъ при продолжительной жизни ихъ внѣ организма

можетъ обогатить науку цѣнными результатами. Наконецъ, въ области патологии открывается широкое поле для точнаго изученія жизни и функціи клѣтокъ при ненормальныхъ условіяхъ.

Уже въ настоящее время, несмотря на новизну вопроса, получены очень цѣнные результаты, позволяющіе предсказать новому методу огромную будущность. Вкратцѣ мы и остановимся здѣсь на этихъ результатахъ.

Въ самыхъ первыхъ своихъ сообщеніяхъ *Carrel* уже отмѣчаетъ то обстоятельство, что растущія клѣтки часто оставляютъ посаженный кусочекъ и разсѣиваются въ окружающей плазмѣ. Самъ же кусочекъ въ концѣ концовъ оказывается иногда совершенно лишеннымъ клѣтокъ. Выращиваемыя внѣ организма клѣтки какъ бы освобождаются отъ обязанности жить во взаимной зависимости другъ отъ друга, образуя ткань. Это разсѣиваніе клѣтокъ особенно рѣзко выступаетъ во вторичныхъ культурахъ, гдѣ и ростъ клѣтокъ происходитъ значительно энергичнѣе, чѣмъ въ первичныхъ посадкахъ. Повидимому, энергія роста клѣтокъ въ культурахъ со временемъ постепенно возрастаетъ. Однако въ первыхъ своихъ опытахъ *Carrel* не удалось значительно продлить жизнь культивируемыхъ клѣтокъ. Культуры гибли отъ истощенія питательной среды и отъ накопленія различныхъ продуктовъ обмена веществъ.

Поэтому ближайшей задачей было усовершенствованіе техники съ цѣлью *продлить жизнь культуръ* по возможности на продолжительное время. Эта задача въ настоящее время разрѣшена *Carrel* довольно удовлетворительно. Въ первыхъ своихъ опытахъ *Carrel* старался достигнуть продленія жизни культуры полученіемъ такъ называемыхъ вторичныхъ и третичныхъ культуръ, но уже въ третичныхъ культурахъ роста или совсѣмъ не наблюдалось или онъ былъ очень слабъ.

Одна прибавка новой плазмы къ старой культурѣ тоже не даетъ хорошихъ результатовъ; выросшая ткань остается въ старой истощенной плазмѣ, переполненной продуктами обмена веществъ; значительнаго усиленія роста при этомъ не наблюдается. Для удаленія продуктовъ обмена веществъ *Carrel*²⁰⁾ предложилъ промывать культуры въ жидкости *Ringer'a* въ теченіе времени отъ нѣсколькихъ минутъ до 24 часовъ. Лучше пользоваться жидкостью, охлажденной до $+1^{\circ}$. Прибавка новой питательной среды производится уже послѣ промыванія; при этомъ предварительно края старой питательной среды, гдѣ еще нѣтъ клѣтокъ, обрѣза-

ются. Для такихъ опытовъ *Carrel* и *Burrows* дѣлали посадки тканей въ чашечкахъ *Габричевскаго* на деревянныхъ кубикахъ, покрытыхъ шелковой матеріей. Культуры помещались на поверхности шелковой матеріи и вмѣстѣ съ послѣдней переносились въ жидкость *Ringer*'а для промыванія.

При этихъ опытахъ въ жизни культивируемыхъ клѣтокъ наблюдалось чередованіе двухъ фазъ: фазы явной жизни и фазы скрытой жизни. Во время промыванія культуры, а также въ теченіе нѣкотораго времени послѣ помещенія культуры въ термостатъ, роста не наблюдается,—это фаза скрытой жизни. Затѣмъ наступаетъ фаза явной жизни съ энергичнымъ ростомъ и размноженіемъ клѣтокъ и проникновеніемъ ихъ изъ старой питательной среды въ свѣжую. Черезъ 4 дня культуры снова промываются въ жидкости *Ringer*'а, ростъ клѣтокъ на нѣкоторое время опять приостанавливается съ тѣмъ, чтобы потомъ снова возобновиться и т. д.

Такимъ способомъ *Carrel*'ю²¹⁾ удалось продлить жизнь соединительной ткани болѣе, чѣмъ на 5 мѣсяцевъ, при чемъ культуры промывались въ жидкости *Ringer*'а около 47—48 разъ. Во время явной жизни вокругъ старой ткани разрасталась молодая ткань въ видѣ отдѣльнаго колечка, такъ что иногда по числу такихъ колецъ можно было опредѣлить число протекшихъ фазъ явной и скрытой жизни. Видъ культуръ соединительной ткани постепенно съ теченіемъ времени измѣнялся. На 3-мъ и на 4-мъ мѣсяцѣ число круглыхъ и веретенообразныхъ клѣтокъ значительно уменьшилось; появились амёбовидныя клѣтки; на 5-мъ мѣсяцѣ культура состояла только изъ амёбовидныхъ клѣтокъ. Энергія роста культивируемой соединительной ткани съ теченіемъ времени увеличивалась; такъ, на 2—3-мъ мѣсяцѣ она равнялась энергіи роста эмбриональной ткани или саркомы.

Далѣе, *Carrel*'ю²¹⁾ удалось получить чистыя культуры опредѣленныхъ клѣтокъ. Для этого изъ 63-дневной культуры сердца была вырѣзана съ периферіи группа амёбовидныхъ клѣтокъ и пересажена на новую плазму. Часть изъ этихъ пересаженныхъ клѣтокъ сохранила характеръ амёбовидныхъ элементовъ, другая же часть превратилась въ вытянутыя клѣтки. Тѣ и другіе элементы были изолированы другъ отъ друга и получены въ чистыхъ культурахъ. При дальнѣйшемъ культивированіи морфологія этихъ изолированныхъ другъ отъ друга группъ клѣтокъ уже не измѣнялась.

Въ самое послѣднее время *Carrel* ²²⁾ сообщаетъ о ростѣ въ организмѣ соединительной ткани изъ сердца куриного эмбриона въ теченіе болѣе, чѣмъ 15 мѣсяцевъ; питательная среда при этомъ обновлялась черезъ каждые 2—3 дня, всего за время опыта 172—173 раза. Далѣе, *Carrel* долгое время сохранялъ жизнь въ культурахъ саркомы *Rous'a*; въ теченіе 46 дней роста кусочекъ саркомы перенесъ 20 пассажировъ.

Въ послѣднее время, кромѣ *Carrel'*я, и нѣкоторымъ другимъ авторамъ удалось продлить жизнь культивируемыхъ тканей. Такъ, *Lambert и Hanes* ²³⁾ культивировали соединительно-тканнныя клѣтки изъ сонной артеріи крысы въ теченіе 3½ мѣсяцевъ. *Marinesco и Minea* ²⁴⁾ сохраняли въ культурахъ живыми нервныя клѣтки изъ спинно-мозгового узла кролика въ теченіе 24 дней.

Затѣмъ, при помощи этой усовершенствованной техники *Burrows'у* съ *Carrel'емъ* ²¹⁾ удалось наблюдать функціональную дѣятельность кусочка сердечной мышцы въ изолированномъ отъ организма состояніи въ теченіе очень продолжительнаго времени. Кусочки сердца куриного зародыша, помѣщенные въ плазму курицы, обнаруживаютъ ритмическія сокращенія. Послѣ промыванія въ жидкости *Ringer'a* и прибавленія новой плазмы наблюдается ускореніе ритма. Одинъ сравнительно большой кусочекъ сердца сокращался 92 раза въ минуту, другой кусочекъ, меньшихъ размѣровъ,—120 разъ. Сокращенія были сильны и правильны. На 4-й день послѣ промыванія наблюдалось замедленіе ритма, но затѣмъ послѣ новаго промыванія въ жидкости *Ringer'a* и прибавленія свѣжей плазмы число сокращеній опять поднялось и достигло 120—160 ударовъ въ минуту. Въ другомъ опытѣ кусочекъ сердца куриного зародыша, посаженный на плазмѣ курицы, вначалѣ энергично сокращался, но затѣмъ быстро обросъ толстымъ слоемъ развившейся соединительной ткани и пересталъ биться. Въ такомъ состояніи онъ находился больше 1-го мѣсяца. Жизнь его въ это время поддерживалась періодическими промываніями въ жидкости *Ringer'a* съ добавленіемъ каждый разъ свѣжей плазмы. Черезъ мѣсяць соединительная ткань, развившаяся въ видѣ скорлупы вокругъ кусочка сердечной мышцы, была удалена, послѣ чего наступили правильныя сокращенія кусочка около 120—130 разъ въ минуту. Эти сокращенія продолжались цѣлыхъ два мѣсяца. Каждый разъ во время промыванія въ жидкости *Ringer'a* приходилось удалять выросшую вокругъ кусочка соединительную ткань. Итакъ, въ этомъ замѣчательномъ опытѣ кусочекъ сердца сохранялъ свою функціональную дѣятельность

болѣе 3-хъ мѣсяцевъ и только вслѣдствіе случайнаго сдавленія кусочка во время промыванія наступила остановка ритмическихъ сокращеній его.

Такое продолжительное сохраненіе функціональной дѣятельности сердечной мышцей *in vitro* даетъ возможность изучать вліяніе на ея дѣятельность самыхъ разнообразныхъ агентовъ. Правда, работы въ этомъ направленіи только еще начаты. Такъ, *Levaditi* и *Mutermilch* ²⁵⁾ нашли, что кусочки сердца куриного эмбриона послѣ предварительнаго соприкосновенія съ дифтерійнымъ токсиномъ способны при культивированіи къ функціональной дѣятельности, хотя обычнаго роста веретенообразныхъ клѣтокъ при этомъ совершенно не бываетъ. По наблюденіямъ *Doyen'a*, *Lytkowsky*, *Browne* и *m-lle Smyrnoff'ой* ²⁶⁾, сильный электрическій свѣтъ возобновляетъ прекратившіяся сокращенія въ кусочкахъ сердечной мышцы.

Составъ питательной среды имѣетъ, понятно, огромное значеніе для роста культуры. Лучшей средой считается кровяная плазма, взятая отъ животнаго того же вида. Ростъ на инородной плазмѣ бываетъ въ общемъ хуже, чѣмъ на однородной. Многое здѣсь зависитъ отъ вида животнаго, у котораго берется плазма. Культуры, приготовленныя на сывороткѣ или на смѣси сыворотки съ агаромъ, а также на бульонѣ, агарѣ, жидкости *Ringer'a*, обыкновенно даютъ очень слабый ростъ.

Прибавка тѣхъ или другихъ веществъ къ плазмѣ сильно отражается на ростѣ посадокъ, то усиливая, то ослабляя его. Разбавленная плазма на $\frac{1}{4}$ или на $\frac{2}{5}$ дистиллированной водой, какъ предложилъ *Carrel* ²⁷⁾, является лучшей питательной средой для соединительной ткани, чѣмъ чистая плазма. По наблюденіямъ *Hadda* ¹⁴⁾, въ смѣси куриной и кроличьей плазмы костный мозгъ кролика растетъ лучше, чѣмъ въ чистой кроличьей плазмѣ.

Значеніе кислорода для роста культивируемыхъ тканей вполне очевидно. Изслѣдованія *Loeb'a* и *Fleisher'a* ²⁸⁾ показываютъ, что при отсутствіи кислорода посаженный кусочекъ не только не даетъ никакого роста, но очень быстро погибаетъ. Если же посаженную ткань привести въ соприкосновеніе съ чистымъ кислородомъ, то ростъ происходитъ, повидимому, нѣсколько лучше, чѣмъ въ томъ случаѣ, когда растущая ткань соприкасается съ обыкновеннымъ воздухомъ.

Вліяніе различныхъ температуръ на энергію роста культивируемыхъ тканей изучали *Lambert* и *Hanes* ²³⁾. Они нашли, что ростъ соединительной ткани куриного зародыша возможенъ меж-

ду 26° и 44°C . При болѣе низкой температурѣ энергія роста уменьшается, дѣленіе клѣтокъ происходитъ значительно медленнѣе; такъ, при 28° дѣленіе продолжается въ два раза дольше, чѣмъ при 38° . Даже при очень низкихъ температурахъ жизнь клѣтокъ теплокровныхъ животныхъ сохраняется въ теченіе нѣкотораго времени; такъ, ткань куриного зародыша переноситъ охлажденіе до -20°C . въ теченіе 5—10 минутъ. Высокія температуры оказываются болѣе губительными для клѣтокъ. При температурѣ въ 48° — 50°C . большинство клѣтокъ погибаетъ.

Lavaditi и *Mutermilch* ²⁹⁾ подвергали дѣйствию фіолетовыхъ лучей въ продолженіе 20—30 минутъ кусочки сердца и селезенки куриного зародыша, послѣ чего приготавливали изъ нихъ культуры. Въ такихъ посадкахъ не наблюдалось ни роста, ни размноженія клѣтокъ, и лишь вокругъ кусочковъ селезенки появлялись въ небольшомъ количествѣ блуждающіе элементы.

Изученіе вліянія состава питательной среды на ростъ культивируемыхъ тканей еще только начато.

Почти совершенно не изучено вліяніе различныхъ веществъ на энергію роста посаженной ткани. Имѣются только единичныя наблюденія. Такъ, *Голяницкій* ³⁰⁾ изслѣдовалъ вліяніе нѣкоторыхъ органогенныхъ препаратовъ, какъ адреналинъ, питуитринъ, на ростъ посаженныхъ кусочковъ куриного зародыша. Оказалось, что адреналинъ, прибавленный къ плазмѣ въ разведеніи 1 : 10000, задерживаетъ ростъ, а питуитринъ въ томъ же разведеніи, наоборотъ, усиливаетъ его. *Pyrolaxin*, по наблюденіямъ Голяницкаго, при разведеніи 1 : 25000 и 1 : 50000 не оказываетъ замѣтнаго вліянія на энергію роста тканей.

По наблюденіямъ *Кринтовскаго* и *Полева* ³¹⁾, въ культурахъ костного мозга кролика, посаженныхъ на плазмѣ, смѣшанной въ равномъ объемѣ съ *aqua Pulegii*, происходитъ лишь одна эмиграція бѣлыхъ кровяныхъ тѣлецъ, соединительно-тканная же клѣтки совершенно не развиваются.

Примѣненіе метода культивированія тканей внѣ организма общааетъ быть крайне важнымъ для дальнѣйшаго изученія проблемы злокачественныхъ опухолей. Уже первыми своими опытами *Carrel* и *Burrows* доказали возможность получать культуры злокачественныхъ опухолей, взятыхъ какъ отъ животныхъ, такъ и отъ человѣка. Изъ этихъ опытовъ выяснилось, что клѣтки злокачественныхъ опухолей и внѣ организма обладаютъ способностью къ весьма энергичному росту. Такъ, въ первомъ же опытѣ съ посадкой саркомы цыпленка *Rous* наблюдалось крайне быстрое

развитіе культуры почти безъ скрытаго періода. Саркоматозныя клѣтки энергично размножались и очень быстро разсѣивались по питательной плазмѣ, такъ что черезъ 10 часовъ послѣ посадки площадь, занятая выселившимися и новообразованными саркоматозными клѣтками, была больше площади, занятой посаженнымъ кусочкомъ. Черезъ 24 часа площадь распространенія саркоматозныхъ клѣтокъ превосходила размѣры посаженного кусочка иногда разъ въ 10 и больше. Въ одномъ случаѣ, по истеченіи 48 часовъ, поверхность, покрытая саркоматозными клѣтками, оказалась въ 22 раза больше поверхности посаженного кусочка.

Въ этомъ первомъ опытѣ *Carrel*'я и *Burrows*'а съ выращиваніемъ злокачественной опухоли цыпленка характеръ питательной среды оказывалъ сильное вліяніе на ростъ культуры. Изъ 7 посадокъ саркомы, сдѣланныхъ на плазмѣ здороваго цыпленка, положительный результатъ получились только въ 2 случаяхъ. Наоборотъ, всѣ 6 посадокъ, сдѣланныхъ на плазмѣ того же цыпленка, отъ котораго была взята опухоль, дали хорошій ростъ.

Въ другомъ опытѣ *Carrel*'ю и *Burrows*'у удалось вырастить *in vitro* саркому человѣка такъ же легко, какъ и саркому цыпленка. Изъ 12 посадокъ въ этомъ случаѣ успѣхъ получился въ 10. Кусочки саркомы садились здѣсь въ кровяную плазму, взятую отъ той же женщины, отъ которой была получена и опухоль.

Lambert и *Hanes* ²³⁾ культивировали саркому крысы на плазмахъ, добытыхъ отъ различныхъ животныхъ. Оказалось, что въ нѣкоторыхъ плазмахъ, какъ напр., въ плазмѣ козы, роста совсѣмъ не было; на другихъ же плазмахъ, именно на плазмѣ свинки, кролика, собаки, голубя, саркома крысы дала замѣтный ростъ. Ростъ получился также и на плазмѣ человѣка. Въ этихъ культурахъ авторы наблюдали амёбовидную подвижность саркоматозныхъ клѣтокъ.

Кромѣ саркомы, *Lambert* и *Hanes* ²³⁾ культивировали внѣ организма также и карциному. Опухоль для посадки они получили отъ мыши. Опухоль эта оказалась также способной къ энергичному росту внѣ организма. Растущія клѣтки образовывали тонкія ленты, шириной въ одинъ рядъ клѣтокъ, направленныя отъ посаженного кусочка въ окружающую плазму. Раковые клѣтки передвигались по плазмѣ при помощи амёбовидныхъ движеній. Какъ саркоматозныя, такъ и раковыя клѣтки обнаруживали при культивированіи *in vitro* явленія активнаго фагоцитоза. Такъ, онѣ захватывали зернышки кармина, примѣшанныя къ плазмѣ.

По наблюденіямъ *Lambert*'а и *Hanes*'а, въ противоположность опытамъ *Carrel*'я и *Burrows*'а, саркома крысы растеть на плазмѣ

нормального животного такъ же хорошо, какъ и на плазмѣ носителя опухоли. Ростъ получается даже и на плазмѣ невоспріимчивыхъ къ этой саркомѣ крысъ. Авторы видятъ въ этомъ новое доказательство въ пользу мнѣнія объ отсутствіи специфическихъ и цитотоксическихъ веществъ въ тканевыхъ жидкостяхъ у животныхъ, обладающихъ иммунитетомъ къ опухолямъ.

Carrel и *Burrows*³², кромѣ саркомы цыпленка *Rous*, культивировали также саркому крысы *Ehrlich*'а и *Jensin*'а, ракъ крысы *Hexner-Iobling*'а, ракъ собаки, саркому и ракъ человѣка. Въ этихъ опытахъ имъ удалось прививать животному выращенныя *in vitro* клѣтки злокачественныхъ опухолей, при чемъ получался положительный результатъ: на мѣстѣ прививки культуры развивалась злокачественная опухоль.

Изъ всѣхъ этихъ опытовъ видно, насколько плодотворно можетъ быть примѣненіе метода выращивания тканей внѣ организма для изученія столь темной проблемы злокачественныхъ опухолей.

Далѣе, нѣкоторые авторы пробовали примѣнять способъ тканевыхъ культуръ для изученія процессовъ заживленія ранъ. Такъ, *Ruth*^{15—16} наносилъ маленькія ранки на кожѣ лягушки и морской свинки и затѣмъ культивировалъ пораненные кусочки *in vitro*. Автору удалось прослѣдить весь процессъ рубцеванія каждой раны подъ микроскопомъ. Оказалось, что заживленіе раны *in vitro* существенно не отличается отъ рубцеванія въ тѣлѣ животного. Процессъ рубцеванія *in vitro* можно раздѣлить на 3 періода: 1) эмиграція клѣтокъ съ краевъ раны въ раневую полость, 2) эпидермизація раневой поверхности и 3) стягиваніе краевъ раны. Рана, шириной въ 0,32—0,82 мил., можетъ закрыться эпителиальными клѣтками въ теченіе 10 часовъ отъ начала культивирования. Благодаря стягиванію краевъ раны, ширина ея можетъ уменьшиться до $\frac{1}{4}$ противъ первоначальной. Между заживленіемъ каждой раны у свинки и у лягушки *in vitro*, по наблюденіямъ *Ruth*'а, оказалась существенная разница. У лягушки раневая полость заполнялась главнымъ образомъ эпителиальными клѣтками, а у морской свинки—соединительной тканью.

Въ этихъ опытахъ рубцеваніе происходило быстро, если измѣнялась молекулярная концентрація питательной плазмы, вслѣдствіе прибавленія къ ней или дистиллированной воды или гипертоническихъ солевыхъ растворовъ.

*Carrel*²⁷) придаетъ большое значеніе этимъ опытамъ съ заживленіемъ ранъ *in vitro*. Зная вліяніе тѣхъ или другихъ физико-

химическихъ агентовъ на быстроту рубцеванія *in vitro*, можно было бы, по его мнѣнію, непосредственно вліять и въ цѣломъ организмѣ на процессъ рубцеванія въ желательномъ направленіи.

Новый методъ культивированія тканей внѣ организма оказался плодотворнымъ также и для изученія вопроса объ образованіи тѣхъ или другихъ антитѣлъ, о дѣйствіи цитотоксиновъ на растущія клѣтки и т. под.

Carrel ^{20, 21)} показалъ, что культивируемыя ткани способны вырабатывать специфическіе гемолизины. Для этого онъ прибавлялъ къ культурамъ костнаго мозга и лимфатической железы морской свинки, растущимъ на плазмѣ того же животнаго, по двѣ капли крови козы. На 3-й день роста культуры можно было видѣть подъ микроскопомъ пожираніе эритроцитовъ козы лейкоцитами морской свинки, а на 4-й и 5-й день продукты жизнедѣятельности культуры содержали специфическіе гемолизины для эритроцитовъ козы.

Hadda и *Rosenthal* ³³⁾ изучали дѣйствіе гемолитической плазмы на выращиваемыя въ ней ткани. Кожа и хрящъ куринаго зародыша садилась въ плазму кролика, дѣйствующую на красныя кровяныя тѣльца курицы гемолитически. Оказалось, что плазма кролика производитъ на клѣтки кожи и хряща куринаго зародыша вредное вліяніе, хотя въ общемъ ростъ этихъ тканей получается удовлетворительный. Но клѣтки въ такой культурѣ, въ отличіе отъ посадокъ на плазмѣ курицы, представляютъ явленія дегенерации: структура ядра въ нихъ выражена слабо; контуры клѣтокъ не ясны; много клѣтокъ въ состояніи распада.

Въ другихъ опытахъ авторы, получивъ отъ курицы гемолитическую плазму путемъ предварительнаго введенія ей эритроцитовъ курицы же, садили на такой плазмѣ кожу и хрящъ куринаго зародыша. Ростъ получился очень слабый, несмотря на то, что плазма являлась однородной. Въ плазмѣ же кролика, иммунизированнаго предварительно кровяными тѣльцами курицы, роста совершенно не получилось. Если культивировать тѣ же ткани въ плазмѣ кролика, иммуннаго къ эритроцитамъ барана, то ростъ оказывался такимъ же, какъ и въ обыкновенной плазмѣ кролика. Итакъ, заключаютъ авторы, гемолитическая сыворотка дѣйствуетъ специфически не только на эритроциты, но и на остальныя клѣтки организма.

Foot ^{34—35)} показалъ, что ткани не растутъ въ плазмѣ животнаго, иммунизированнаго предварительно инъекціями эмульсии изъ этихъ тканей. Такая плазма дѣйствуетъ на эти ткани цитото-

кисически. Такъ, если посадить ткани курицы на плазмѣ кролика, которому предварительно впрыскивалась въ брюшную полость эмульсія костного мозга курицы въ физиологическомъ растворѣ, то роста тканей совершенно не происходитъ. Очень быстро послѣ изготовленія культуръ наблюдаются явленія преципитации. Не получились также роста въ собственной плазмѣ костного мозга кролика, предварительно иммунизированнаго при помощи костного мозга курицы. Такимъ образомъ, кроликъ, иммунизированный какимъ-либо костнымъ мозгомъ, становится, повидимому, иммуннымъ противъ костного мозга вообще, даже противъ своего собственного. Во всѣхъ контрольныхъ опытахъ, гдѣ предварительной иммунизации не производилось, *Foot* наблюдалъ явленія роста костного мозга.

Къ такимъ же въ общемъ результатамъ, какъ *Foot*, пришли *Lambert* и *Hanes* ²³⁾. Эти авторы впрыскивали подъ кожу крысамъ эмульсію саркомы мыши. Черезъ нѣкоторое время на плазмѣ этихъ крысъ садилась саркома мыши; ростъ получался очень слабый. Въ другомъ опытѣ на плазмѣ морскихъ свинокъ, которымъ предварительно впрыскивалась подъ кожу эмульсія саркомы крысы, садилась саркома крысы,—роста не получалось. На основаніи этого нужно предполагать, что въ плазмѣ этихъ животныхъ находились специфическія цитотоксическія вещества, препятствовавшія росту.

Далѣе, *Ingebrigtsen* ⁵⁸⁾ нашелъ, что если инактивировать гетерогенную плазму нагреваніемъ въ теченіе $\frac{1}{2}$ часа при 56° , то ростъ посаженныхъ въ ней тканей происходитъ лучше. Такъ, ростъ костного мозга морской свинки въ плазмѣ кролика и курицы происходитъ лучше, если плазму этихъ животныхъ предварительно инактивировать.

Lüdke ³⁶⁾ удалось получить образованіе антитѣлъ въ культивируемыхъ *in vitro* тканяхъ. Для этого онъ впрыскивалъ морскимъ свинкамъ въ вены сублетальныя дозы убитыхъ бактерій брюшного тифа и дизентеріи. Черезъ 24—48 часовъ послѣ впрыскиванія бралась отъ этой свинки кровь изъ а. carotis для полученія плазмы, а затѣмъ кусочки селезенки и костного мозга отъ того же животного засѣвались на эту плазму. Черезъ 3—6 дней послѣ посадки въ культурахъ появлялись специфическіе агглютинины по отношенію къ бактеріямъ брюшного тифа и дизентеріи.

Przygode ⁶¹⁾ также наблюдалъ образованіе специфическихъ агглютининовъ въ тканевыхъ культурахъ. Въ качествѣ антигена брались убитыя брюшнотифозныя бактеріи. Для культивированія упо-

треблялись кусочки селезенки кролика. Опыты ставились двоякимъ образомъ. Въ одномъ рядѣ опытовъ техника была почти та же, что и у *Lüdke*. Кроликамъ предварительно впрыскивалась въ вену взвѣсь убитыхъ тифозныхъ бациллъ. На 3-й, 5-й и 7-й день послѣ впрыскиванія производилась посадка кусочковъ селезенки на плазмѣ здороваго кролика. Черезъ 5-дневные промежутки культуры промывались жидкостью *Ringer*'а, и къ нимъ добавлялась новая плазма. На 9—12 день, считая отъ момента впрыскиванія антигена кролику, культуры испытывались на присутствіе специфическихъ агглютининовъ. Наблюдалось значительное усиленіе агглютинаціи по сравненію съ контролемъ. Тогда какъ экстрактъ селезенки агглютинировалъ тифозныхъ бактерій лишь при разведеніи въ 10 разъ, культуры автора ясно агглютинировали при разведеніи въ 800 и даже въ 1600 разъ.

Во второмъ рядѣ опытовъ *Przygode* бралъ для посадки кусочки селезенки отъ нормальнаго кролика. Въ теченіе 5—6 часовъ эти кусочки выдерживались на холоду въ смѣси съ антигеномъ для того, чтобы произошла полная имбибиція ткани тифознымъ ядомъ. Затѣмъ кусочки садились на плазму, и на 9—10 день опредѣлялся въ культурѣ титръ агглютинаціи. Онъ оказался равнымъ 1:200—400. По сравненію съ результатами перваго ряда опытовъ здѣсь наблюдалось менѣе значительное образованіе специфическихъ агглютининовъ.

Въ самое послѣднее время *Levaditi u Mutermilch* ^{25, 37—39}) произвели нѣсколько изслѣдованій надъ дѣйствіемъ токсиновъ на культуры кусочковъ селезенки, сердца, почки и костнаго мозга куринаго зародыша. Считая за проявленіе нормальной жизни въ культурахъ костнаго мозга и селезенки явленія эмиграціи, а въ культурахъ сердца и почки развитіе веретенообразныхъ соединительно-тканыхъ клѣтокъ, авторы передъ посадкой подвергали кусочки этихъ органовъ дѣйствію дифтерійнаго токсина или яда кобры. Оказалось, что дифтерійный токсинъ въ извѣстныхъ количествахъ препятствуетъ развитію веретенообразныхъ клѣтокъ, но нисколько не вліяетъ на клѣточную эмиграцію. Если дифтерійный токсинъ нагрѣть до 100° въ теченіе 10—15 минутъ, то, какъ извѣстно, онъ теряетъ свои ядовитыя свойства по отношенію къ морскимъ свинкамъ; тѣмъ не менѣе, неблагоприятное вліяніе его на культуры сохраняется, хотя и въ болѣе слабой степени. Если предварительно подѣйствовать на посадки дифтерійнымъ токсиномъ, а затѣмъ сейчасъ же антидифтерійной сывороткой, или

же наоборотъ, что неблагопріятное вліяніе токсина на ростъ веретенообразныхъ клѣтокъ нейтрализуется антитоксиномъ.

Кромѣ дифтерійнаго токсина, авторы изучали дѣйствіе яда кобры на культуры сердца и селезенки куриного зародыша. Кусочки органовъ передъ посадкой помещались на 15 минутъ въ растворы 1:1000, 1:10000, 1:100000 яда кобры. Оказалось, что этотъ ядъ уже въ разведеніяхъ 1:1000 убиваетъ клѣтки. Достаточно даже 30-секунднаго соприкосновенія съ ядомъ, чтобы проявилось его дѣйствіе. Смѣси яда кобры и антитоксической сыворотки, нейтральныя *in vivo* и къ гемолизу, не дѣйствуютъ также и на культуры. Если подѣйствовать антитоксической сывороткой черезъ 10—20 минутъ послѣ соприкосновенія кусочковъ сердца съ ядомъ кобры, то наблюдается нормальный ростъ отравленныхъ кусочковъ сердца.

Наконецъ, слѣдуетъ упомянуть объ интересныхъ наблюденіяхъ *Levaditi*⁴⁰⁾, которому удалось культивировать спинно-мозговые узлы обезьянъ, зараженные вирусомъ poliomyelit'a, въ плазмѣ, взятой отъ здоровыхъ обезьянъ. При этихъ условіяхъ *virus* сохраняется внѣ организма продолжительное время и остается патогеннымъ послѣ многихъ пассажей.

Изъ этого краткаго очерка видно, насколько можетъ быть плодотворно и разнообразно примѣненіе метода культивированія тканей внѣ организма.

Производство опытовъ съ культивированіемъ тканей внѣ организма.

Опыты съ выращиваніемъ тканей внѣ организма по *Carrel*'ю начаты были нами въ самомъ скоромъ времени послѣ первыхъ докладовъ *Carrel*'я и *Burrows*'а, сдѣланныхъ въ октябрѣ—ноябрѣ 1910 года въ Парижскомъ Біологическомъ Обществѣ. Первые опыты, произведенные нами въ декабрѣ 1910 года и въ январѣ 1911 года, были неудачны. Неудача зависѣла отъ того, что въ первыхъ сообщеніяхъ *Carrel*'я и *Burrows*'а техника производства опытовъ была изложена чрезвычайно кратко и неясно. Поэтому намъ приходилось самимъ разрабатывать техническую сторону дѣла.

Первые болѣе удачныя опыты были получены нами въ февралѣ и мартѣ 1911 года. Мы занимались культивированіемъ *in vitro* различныхъ тканей и органовъ, какъ отъ взрослыхъ, такъ и отъ молодыхъ теплокровныхъ животныхъ. Нѣсколько опытовъ было сдѣлано съ посадкой тканей и органовъ, взятыхъ отъ зародышей



тѣхъ же животныхъ. Опытными животными были: собаки, кролики и морскія свинки. Свои изслѣдованія мы продолжали и въ 1912 году и 29 февраля этого года сдѣлали докладъ въ засѣданіи Медицинскаго отдѣла Общества естествоиспытателей и врачей при Томскомъ университетѣ⁶⁰), съ демонстраціей культуръ, какъ въ свѣжемъ, такъ и въ фиксированномъ состояніи. Среди прочихъ препаратовъ на этомъ засѣданіи показана была также и культура саркомы человѣка *in vitro*. Въ началѣ 1913 года намъ удалось получить интересные результаты при культивированіи такимъ же способомъ лейкемической крови человѣка, уже опубликованные въ „Русск. Врачъ“ 1913 г. № 17—19.

Въ дальнѣйшемъ изложеніи мы опишемъ болѣе подробно свои опыты съ культивированіемъ тканей и при этомъ описаніи обратимъ особенное вниманіе на морфологію растущихъ *in vitro* клѣтокъ. Выяснить природу развивающихся при данныхъ условіяхъ клѣтокъ, отнести ихъ къ тѣмъ или другимъ извѣстнымъ гистологическимъ элементамъ представляется дѣломъ крайне важнымъ. Между тѣмъ, въ опубликованныхъ доселѣ работахъ чувствуется большой пробѣлъ въ данномъ направленіи.

Техника приготовленія культуръ.

Необходимымъ условіемъ для приготовленія культуры тканей по *Carrel*'ю является возможность получить и перенести асептично живые кусочки тѣхъ или другихъ органовъ и тканей животного въ подходящую питательную среду, при устраненіи по возможности всѣхъ вредныхъ для клѣтокъ вліяній.

При производствѣ посадокъ требуется самое тщательное соблюденіе нѣкоторыхъ общихъ правилъ. Прежде всего требуется полная стерильность отъ микробовъ какъ самаго посадочнаго матеріала, такъ равнымъ образомъ питательной среды, посуды и инструментовъ, употребляемыхъ при производствѣ опыта. Кромѣ того, и окружающій воздухъ долженъ быть по возможности свободенъ отъ микроорганизмовъ. Слѣдуетъ всячески избѣгать оставленія на открытомъ воздухѣ какъ посадочнаго матеріала, такъ равнымъ образомъ питательной среды и самой посуды. Иногда, несмотря на самое, повидимому, тщательное выполненіе правилъ асептики, все-таки часть культуръ оказывается загрязненной бактеріями и потому негодной для опыта.

Далѣе, нужно по возможности избѣгать при посадкѣ всѣхъ вредныхъ для живыхъ клѣтокъ вліяній. Такъ, напр., очень губи-

тельно дѣйствуетъ на живыя ткани подсыханіе ихъ съ поверхности при переносѣ въ питательную среду, особенно въ томъ случаѣ, если кусочки переносятся не прямо въ каплю плазмы, а на сухую поверхность стекла и лишь затѣмъ покрываются питательной плазмой. При разрѣзываніи большого кусочка на мелкія части для посадки инструменты должны быть по возможности остры. Недостаточно острые инструменты наносятъ слишкомъ значительную травму назначеннымъ для посадки клѣточнымъ элементамъ.

Самое приготовленіе тканевыхъ посадокъ *Carrel* совѣтуетъ производить въ помѣщеніи съ влажнымъ воздухомъ, при температурѣ около $37-39^{\circ}\text{C}$. Мы, за невозможностью выполнить указанныя условія, пользовались помѣщеніемъ съ обычной комнатной температурой, около 20°C , и не видѣли отъ этого особенно дурныхъ послѣдствій.

При производствѣ опытовъ съ посадкой тканей по *Carrel*'у и *Burrows*'у⁴¹⁾ нужно выполнить слѣдующія манипуляціи: 1) приготовить посадочный матеріалъ; 2) приготовить питательную среду и 3) произвести самую посадку въ соотвѣтствующей посудѣ. Приготовленные культуры помѣщаются затѣмъ въ термостатъ при опредѣленной температурѣ. Ниже мы опишемъ, какъ мы сами дѣлали опыты съ посадкой тканей, отмѣчая лишь тѣ или другія особенности техники, которыя были предложены различными авторами.

Посадочнымъ матеріаломъ для нашихъ опытовъ служили небольшіе кусочки различныхъ тканей и органовъ, взятыхъ или при жизни или тотчасъ послѣ смерти животнаго. Такъ, для полученія посадочнаго матеріала изъ различныхъ внутреннихъ органовъ, мы поступали слѣдующимъ образомъ. У животнаго вскрывалась брюшная или грудная полость, обнажались тѣ или другіе внутренніе органы и сейчасъ же отрѣзались отъ нихъ стерильными ножницами тонкіе длинные кусочки, въ видѣ лентъ до 1—2 сант. длиной. Эти кусочки быстро переносились въ глубокія чашечки *Petri*, наполненныя до половины стерилизованной жидкостью *Ringer*'а. Здѣсь кусочки могли оставаться, если это оказывалось нужнымъ, въ теченіе нѣкотораго времени, до 2—3 часовъ при комнатной температурѣ безъ того, чтобы это отразилось вреднымъ образомъ на ихъ способности къ произрастанію. При низкой же температурѣ, около $0^{\circ}+2^{\circ}\text{C}$, посадочный матеріалъ можетъ сохраняться въ жидкости *Ringer*'а въ теченіе болѣе продолжительнаго времени. Такъ, въ одномъ случаѣ кусочки селезенки кролика, хранившіеся въ

Рингеровской жидкости въ теченіе 10 дней, дали у насъ въ общемъ хорошій ростъ.

Carrel въ своихъ опытахъ сохранялъ посадочный матеріалъ еще дольше, иногда болѣе мѣсяца при низкой температурѣ, и тѣмъ не менѣе наблюдалъ явленія роста въ приготовленныхъ изъ такого матеріала культурахъ. Во всякомъ случаѣ, по мѣрѣ продолжительности храненія посадочнаго матеріала внѣ организма энергія роста тканей постепенно падаетъ. Такъ, въ нашихъ опытахъ съ культивированіемъ лейкемической крови наилучшій ростъ получался изъ матеріала, хранившагося возможно меньше до момента посадки. Нѣсколько худшій ростъ получался въ томъ случаѣ, если кровь сохранялась въ теченіе 1—2 дней послѣ взятія ея отъ больного. Культуры, приготовленныя изъ лейкемической крови, пролежавшей при 0° въ теченіе 3 сутокъ до момента посадки, дали уже ростъ, значительно болѣе слабый. Наконецъ, никакого роста не получилось изъ той же лейкемической крови, сохранявшейся до посадки въ теченіе 10 дней.

Сохранять матеріалъ для посадки можно, кромѣ Рингеровской жидкости, въ фізіологическомъ растворѣ поваренной соли и въ кровяной сывороткѣ.

Предъ самой посадкой кусочки тѣхъ или другихъ органовъ нужно разрѣзать на мелкія частички, величиной отъ $\frac{1}{2}$ до 1—2 мил. въ поперечникѣ. Мы обыкновенно разрѣзали кусочки небольшими острыми ножницами, не вынимая ихъ изъ Рингеровской жидкости. При этой процедурѣ требуется извѣстный навыкъ, чтобы слишкомъ не травмировать назначенные къ посадкѣ элементы.

Carrel и *Burrows* въ первыхъ своихъ опытахъ раздѣленіе посадочнаго матеріала на мелкія частички производили подъ бинокулярнымъ микроскопомъ. Позднѣ эту операцію они производили прямо на воздухѣ при помощи остраго ножа и тонкой иглы. Но при этомъ нужно крайне спѣшить съ посадкой отрѣзанныхъ маленькихъ кусочковъ въ соответствующую питательную среду, такъ какъ иначе они быстро на воздухѣ подсыхаютъ и не даютъ уже роста. Кромѣ того, *Carrel* и *Burrows* разрѣзали кусочки тканей и органовъ также и въ часовомъ стеклѣ острыми ножницами.

Въ томъ случаѣ, когда посадочнымъ матеріаломъ являются ткани куриного зародыша, техника приготовленія посадочнаго матеріала нѣсколько отличается отъ обычной. Скорлупа яйца обмывается дезинфицирующими жидкостями, смазывается іодной настойкой, зародышъ затѣмъ освобождается отъ оболочекъ, пере-

носятся въ какую-нибудь изъ перечисленныхъ жидкостей и тамъ разрѣзается на мелкіе кусочки.

Въ нашихъ опытахъ съ культивированіемъ лейкемической крови техника взятія и приготовленія посадочнаго матеріала тоже отличалась отъ общепринятой.

Кровь для посадки бралась изъ мякоти пальца больного уколомъ, послѣ тщательнаго обтиранія пальца спиртомъ и эфиромъ. Выступавшая изъ укола кровь всасывалась въ особыя пипетки, на подобіе Пастеровскихъ, съ оттянутыми обоими концами. Пипетки эти заблаговременно наполнялись жидкостью *Ringer'a* до половины ихъ объема, запаивались съ обѣихъ сторонъ и стерилизовались въ автоклавѣ. Передъ самымъ употребленіемъ запаивные оттянутые концы отламывались, кровь всасывалась въ пипетку и, смѣшиваясь тамъ съ Рингеровской жидкостью, разбавлялась, смотря по желанію, приблизительно въ 5—10 разъ. Тотчасъ послѣ этого нижній конецъ пипетки опять запаивался. Если же предполагалось сохранять кровь въ теченіе продолжительнаго времени до посадки, то запаивался и верхній оттянутый конецъ. Въ такомъ видѣ кровь приносилась изъ клиники, гдѣ лежали больные лейкеміей, въ лабораторію. Черезъ нѣкоторое время послѣ взятія кровь начинала медленно свертываться, образуя сначала большой, но очень рыхлый сгустокъ. Если кровь оставалась въ спокойномъ положеніи, то сгустокъ захватывалъ почти всю массу форменныхъ элементовъ, и жидкость вокругъ сгустка становилась прозрачной. Если же пипетка по временамъ встряхивалась, то значительная часть кровяныхъ тѣлецъ оставалась внѣ сгустка, въ самой жидкости въ свободномъ состояніи. Образовавшійся сгустокъ съ теченіемъ времени стягивался, уменьшался въ объемѣ, становился болѣе плотнымъ и въ видѣ тонкаго длиннаго темно-краснаго шнура занималъ относительно небольшую часть просвѣта пипетки.

Взятая кровь сохранялась до момента посадки различнымъ образомъ. Если посадка производилась въ ближайшіе часы послѣ взятія, то полученная кровь сохранялась или въ термостатѣ при 38° С., или при комнатной температурѣ. Если же посадка производилась позднѣе, именно черезъ 6—10 и болѣе часовъ, то посадочный матеріалъ въ запаивномъ состояніи хранился при 0°.

Между моментомъ взятія крови и помѣщеніемъ приготовленныхъ культуръ въ термостатъ обыкновенно проходило довольно много времени. Въ наиболѣе благопріятныхъ случаяхъ этотъ промежутокъ равнялся полутора часамъ. Нерѣдко проходило 2, да-

же 3 часа. Если въ одинъ день посадка производилась на плазмѣ, добытой отъ двухъ различныхъ животныхъ, напр., сначала на плазмѣ кролика, а потомъ на плазмѣ собаки, то вторая посадка запаздывала еще на часъ или на полтора. Болѣе или менѣе значительно сократить этотъ промежутокъ времени намъ не удавалось, въ виду того обстоятельства, что количество приготавливаемыхъ каждый разъ культуръ доходило до сотни, и что нерѣдко встрѣчались частичныя неудачи, особенно при добываніи плазмы. Кромѣ этого, въ нѣкоторыхъ опытахъ, какъ было упомянуто выше, намѣренно удлинялся нами срокъ между моментомъ полученія крови и ея посадкой, съ цѣлью выяснитъ вліяніе продолжительности храненія крови внѣ организма на жизненныя свойства ея. Съ этою цѣлью нами были сдѣланы посадки крови черезъ 6, 8, 10 часовъ, черезъ 1, 2, 3, и 9 дней послѣ полученія ея.

Приготовленіе посадочнаго матеріала. Въ качествѣ посадочнаго матеріала мы пользовались или тѣми форменными элементами крови, которые не были захвачены кровянымъ сгусткомъ и плавали въ свободномъ состояніи въ жидкости Рингера, или же —самымъ кровянымъ сгусткомъ, съ форменными элементами, въ немъ заключавшимися. Изъ нашихъ наблюденій выяснилось, что кровяной сгустокъ, въ качествѣ посадочнаго матеріала, представляетъ значительныя преимущества сравнительно съ элементами крови, находящимися въ свободномъ состояніи. Посаженный кусочекъ кровяного свертка является исходной точкой для наблюденія за происходящими въ культурѣ измѣненіями. Процессы эмиграціи и расселенія бѣлыхъ кровяныхъ тѣлецъ изъ кровяного сгустка по всему препарату особенно доступны здѣсь наблюденію какъ въ живомъ видѣ, такъ и на фиксированныхъ препаратахъ.

Подготовка посадочнаго матеріала состояла въ томъ, что кровяной свертокъ изъ пипетки переносился въ чашечку *Petri* со стерилизованной жидкостью *Ringer'a*. Здѣсь, при соблюденіи требованій асептики, свертокъ разрѣзался ножницами на мелкіе кусочки, величиной отъ маковаго до просяного зерна. Кусочки эти платиновой петлей разносились потомъ по различнымъ чашечкамъ съ питательной средой. Посадка болѣе крупныхъ кусочковъ давала въ общемъ худшіе результаты, такъ какъ въ этихъ культурахъ скорѣе останавливался ростъ и размноженіе клѣтокъ, и сильнѣе были выражены явленія гибели и разрушенія ихъ.

Въ тѣхъ случаяхъ, когда для посѣва употреблялись не сгустки крови, а форменные элементы, свободно плававшіе въ жидко-

сти Ringer'a, никакой особенной подготовки посадочного материала не требовалось: можно было производить посадку, выдувая прямо из пипетки небольшую капельку жидкости въ питательную среду.

Питательныя среды.

Приготовленные тѣмъ или другимъ способомъ мелкіе кусочки посадочнаго матеріала переносятся въ питательную среду. По отзывамъ всѣхъ авторовъ, занимавшихся выращиваніемъ животныхъ тканей внѣ организма, лучшей питательной средой является кровяная плазма, взятая отъ животнаго того же вида. Мы опишемъ здѣсь подробнѣ самую технику полученія питательной плазмы.

Для полученія плазмы у животнаго обнажается крупный сосудъ, лучше артерія, чѣмъ вена, и въ просвѣтъ сосуда вставляется канюля. Carrel⁴¹⁾ совѣтуетъ какъ стѣнку сосуда, такъ и канюлю смазывать стерилизованнымъ оливковымъ масломъ. Кровь, вытекающая черезъ канюлю, собирается въ параффинированныя пробирки для центрофуги, охлажденныя до 0°. Смазываніе сосуда и канюли оливковымъ масломъ, параффинированіе и охлажденіе пробирокъ дѣлается съ той цѣлью, чтобы по возможности предотвратить свертываніе крови. Нѣкоторые авторы, какъ Шамоу⁴²⁾, совѣтуютъ брать кровь черезъ боковой разрѣзъ сосуда. Вытекающая струей кровь направляется прямо въ пробирки. Для полученія крови отъ такихъ мелкихъ животныхъ, какъ мышь или крыса, Lambert и Hanes²³⁾ совѣтуютъ поступать слѣдующимъ образомъ. У животнаго обнажается сонная артерія на всемъ протяженіи шеи; на проксимальный и дистальный концы ея накладывается по зажиму; артерія затѣмъ перерѣзывается у дистальнаго конца, проксимальный зажимъ снимается и струя крови направляется прямо въ пробирку. Взятіе крови должно быть сдѣлано совершенно асептично. Пробирки съ кровью помѣщаются по возможности быстро въ электрическую центрофугу, на которой производится отбиваніе кровяной плазмы отъ взвѣшенныхъ въ ней элементовъ. Центрофугировать нужно при низкой температурѣ, около 0°, иначе легко можетъ произойти свертываніе крови. Продолжительность центрофугированія равняется 10—15 минутамъ.

Пробирки съ отбитой плазмой помѣщаются въ сосудъ, наполненный снѣгомъ. При помощи стерильныхъ пипетокъ плазма от-

сасывается и разливается по нѣсколько капель въ ту или другую посуду, куда переносятся также и кусочки посадочнаго матеріала. Здѣсь плазма, вслѣдствіе согрѣванія и соприкосновенія со стекломъ и тканями, обыкновенно быстро свертывается. Добываніе плазмы представляется дѣломъ довольно хлопотливымъ и нерѣдко сопряжено съ неудачами. Такъ, иногда кровь свертывается прежде, чѣмъ отобьется плазма, или уже отбитая плазма свертывается раньше, чѣмъ будетъ разлита въ соответствующую посуду. Для того, чтобы сократить продолжительность центрофугирования и получить большее количество плазмы, лучше животному приблизительно за часъ до взятія у него крови ввести въ желудокъ нѣкоторое количество воды, чтобы такимъ образомъ нѣсколько разжижить кровь.

Если питательной средой служить плазма человѣка, то кровь для полученія ея берется изъ *vena mediana* или помощью троакара, соединеннаго съ резиновой трубкой, или же при помощи шприца. Въ послѣднемъ случаѣ изъ шприца кровь сейчасъ же разливается по парафинированнымъ пробиркамъ для центрофуги. Остріе троакара или игла шприца вкалывается прямо черезъ кожу въ просвѣтъ вены.

Carrel'ю удавалось сохранять плазму въ теченіе долгаго времени въ жидкомъ состояніи. Для этого послѣ центрофугирования плазма переливается парафинированными пипетками въ новыя пробирки, охлажденные до 0°. При этой температурѣ, по сообщенію *Carrel*'я, плазма можетъ оставаться жидкой долгое время, иногда до 2-хъ мѣсяцевъ. По наблюденіямъ *Lambert*'а и *Hanes*'а, человѣческая, кроличья и голубиная плазма могутъ сохраняться на холоду жидкими почти неограниченное время. Намъ не удавалось сохранять плазму въ жидкомъ состояніи въ теченіе болѣе или менѣе значительнаго времени и потому для каждаго опыта мы приготавливали свѣжую плазму. Быстрота свертыванія плазмы зависитъ между прочимъ и отъ вида животнаго; такъ, плазма собаки и крысы свертывается быстрѣе, чѣмъ плазма кролика и цыпленка.

Нѣкоторые авторы, какъ *Burrows*, *Голяницкій* ³⁰⁾ пользовались оксалатной плазмой. Для этого они прибавляли къ крови растворъ щавелевокислаго натрія съ такимъ расчетомъ, чтобы содержаніе соли получилось равнымъ 1 : 1000. Кровь при этомъ теряетъ способность свертываться, и плазма добывается безъ всякаго затрудненія. Полученная несвертывающаяся плазма передъ самымъ употребленіемъ смѣшивается съ хлористымъ кальціемъ,

при чемъ выпадаетъ осадокъ щавелевокислаго кальція, и плазма свертывается. Недостатокъ оксалатной плазмы заключается въ томъ, что она мутновата отъ присутствія взвѣшенныхъ въ ней кристалловъ щавелевокислаго кальція. Ростъ на такой плазмѣ происходитъ нѣсколько хуже, чѣмъ на нормальной. *Кринтовскій* и *Полевъ*²¹⁾ предложили оксалатную плазму, мутную отъ взвѣшенныхъ въ ней кристалловъ щавелевокислаго кальція, предварительно центрофугировать, при чемъ плазма дѣлается совершенно прозрачной.

Можно замедлить свертываніе крови предварительнымъ впръскиваніемъ животному раствора гирудина или пептона. Мы пробовали примѣнять гирудинъ, но безъ особеннаго успѣха. Если впръснуть очень мало гирудина, то замедленія свертыванія почти не замѣтно; если впръснуть больше, то получается или очень рыхлый свертокъ, отстающій отъ поверхности стекла, или же плазма совершенно теряетъ способность къ свертыванію.

*Carrel*²⁷⁾ указываетъ на то, что плазма, смѣшанная съ дистиллированной водой на $\frac{1}{4}$ или на $\frac{2}{3}$ своего объема, является лучшей питательной средой для культивированія селезенки. Кромѣ того, онъ смѣшивалъ плазму съ Рингеровской жидкостью, съ экстрактами изъ тканей, изъ органовъ, изъ опухолей, и въ нѣкоторыхъ случаяхъ наблюдалъ при этомъ лучшій ростъ посадокъ, чѣмъ на чистой плазмѣ.

Особенно интересны наблюденія *Carrel*'я²²⁾ надъ вліяніемъ экстрактовъ изъ органовъ на энергію роста культуръ. Прибавка эмбриональнаго сока, сока саркомы или тканевого сока отъ взрослага животнаго къ плазмѣ увеличиваетъ энергію роста культивируемой ткани иногда въ 30—40 разъ. Наиболѣе дѣйствительны экстракты изъ зародышевыхъ тканей и изъ саркомы. Такое дѣйствіе экстракта наблюдается только въ томъ случаѣ, когда онъ берется отъ животнаго того же вида, отъ котораго взята и ткань для культуры. Нагрѣваніе экстрактовъ до 70° въ теченіе 10 минутъ, а также пропусканіе ихъ черезъ фильтръ *Chamberland*'а дѣлаетъ ихъ недѣйствительными.

Инородная плазма является, по отзывамъ *Carrel*'я и другихъ авторовъ, худшей питательной средой, чѣмъ однородная. Но въ большинствѣ случаевъ и на инородной плазмѣ ростъ получается хорошій. Такъ, въ нашихъ опытахъ получился удовлетворительный ростъ саркомы человѣка на плазмѣ собаки и на плазмѣ кролика; форменные элементы лейкемической крови человѣка хорошо

росли и размножались на плазмѣ тѣхъ же животныхъ—кролика и собаки.

Кромѣ плазмы, *Carrel*, *Burrows* и другіе авторы пробовали примѣнять инныя питательныя среды, но всѣ такія среды значительно уступали кровяной плазмѣ. Эти питательныя среды могутъ быть жидкими или плотными. Къ первымъ относятся:—кровяная сыворотка, Рингеровская и Локковская жидкости, фізіологическій растворъ поваренной соли и бульонъ. На сывороткѣ иногда получается удовлетворительный ростъ, если культивируемая ткань фиксирована на поверхности стекла; если же она свободно плаваетъ въ сывороткѣ, то роста не удается наблюдать. Что касается жидкости *Ringer'a*, *Lock'a*, фізіологическаго раствора поваренной соли и мясного бульона, то въ нихъ получается лишь самый слабый ростъ.

Плотныя искусственныя питательныя среды получаютъ смѣшеніемъ вышеуказанныхъ жидкостей съ агаромъ. Изъ нихъ наилучшей средой оказывается предложенная *Carrel'*емъ ²⁰⁾ смѣсь изъ 4 частей кровяной сыворотки и 1 части 2% раствора агара. На такой питательной средѣ *Carrel'*ю удавалось получить удовлетворительный ростъ посаженныхъ тканей. По наблюденіямъ *Ingebrigtsen'a*, кожа, печень и щитовидная железа зародыша кошки развивались лучше въ смѣси агара и сыворотки, чѣмъ въ плазмѣ. Мы тоже пробовали примѣнять смѣсь сыворотки съ агаромъ въ качествѣ питательной среды, но должны были скоро отказаться отъ нея, въ виду слабости роста посаженныхъ на ней тканей. *Lewis* ⁴³⁾ употреблялъ смѣсь Локковской жидкости, агара и бульона. *Carrel* и *Burrows* ⁴¹⁾ пользовались солевымъ растворомъ изъ хлористаго натрія, калия и кальція въ смѣси съ глюкозой и 3% агаромъ. Въ такой искусственной плотной питательной средѣ они наблюдали удовлетворительный ростъ эмбриональной ткани. Въ смѣси агара съ растворомъ хлористаго кальція и натрія получался у нихъ хорошій ростъ эмбриональной ткани, правда, лишь въ теченіе короткаго времени.

Посуда. Посуда, употребляемая при выращиваніи тканей, довольно разнообразна. *Carrel* и *Burrows* въ первыхъ своихъ опытахъ пользовались предметными стеклами съ углубленіями. Позднѣе они употребляли маленькія часовыя стекла, которыя опрокидывались и прикрѣплялись къ предметнымъ стекламъ при помощи парафина. Для полученія большихъ культуръ они предложили пользоваться широкими черными стеклянными пластинками. Употребляли также большія круглыя чашки и чашечки *Габричевскаго*.

Чашечка *Габричевскаго* состоитъ изъ круглаго приѣмника и крышки. На двѣ приѣмника имѣется кольцевидная бороздка, окружающая круглую возвышенную площадку, на которой и готовится культура. Крышка состоитъ изъ двухъ параллельныхъ стеклянныхъ пластинокъ, примазанныхъ вазелиномъ и снабженныхъ каждая двумя отверстиями. При вращеніи пластинокъ отверстія могутъ то закрываться, то открываться, вслѣдствіе чего полость чашечки, смотря по желанію, можетъ или сообщаться съ атмосфернымъ воздухомъ или герметически закрываться.

Круглыя чашечки, которыя употреблялъ *Carrel*, имѣютъ значительную величину. Внутри нихъ помѣщаются чашечки *Petri*. Въ чашечку *Petri* наливается вода, а къ крышкѣ съ нижней стороны прикрѣпляется парафиномъ деревянный кубикъ, покрытый снизу шелковой матеріей. На эту шелковую матерію наносится кусочекъ посадочнаго матеріала, который и заливается плазмой. Какъ указалъ *Carrel* ²²), можно готовить культуры также и въ обыкновенныхъ пробиркахъ. *Голяницкій* ³⁰) предложилъ пользоваться стеклянными капиллярами, въ которые насасывается плазма вмѣстѣ съ кусочками тканей, подлежащихъ выращиванію. Такія капиллярныя трубочки помѣщаются затѣмъ въ особые колбочки, на дно которыхъ наливается Рингеровская жидкость. Мы пользовались въ нашихъ опытахъ главнымъ образомъ чашечками *Petri* различнаго діаметра и разной высоты. Кромѣ того, мы употребляли часовыя стекла и предметныя стекла съ углубленіями.

Такимъ образомъ для приготовленія культуръ можно пользоваться самой разнообразной посудой.

Приготовление культуръ въ общихъ чертахъ производится слѣдующимъ образомъ. Капля жидкой плазмы помѣщается въ ту или другую посуду и въ эту плазму тотчасъ переносится посадочный матеріалъ. *Carrel* поступаетъ въ обратномъ порядкѣ, перенося на стекло сначала кусочекъ ткани, а потомъ заливая его жидкой плазмой. Плазма скоро затѣмъ свертывается и фиксируетъ посаженный въ ней кусочекъ.

Въ первыхъ своихъ опытахъ *Carrel* и *Burrows* готовили культуры въ висячей каплѣ на стеклѣ съ углубленіемъ. Для этого они помѣщали небольшой кусочекъ живой ткани на покровное стекло и заливали его жидкой плазмой. Послѣ свертыванія плазмы покровное стекло опрокидывалось надъ углубленіемъ предметнаго стекла такимъ образомъ, что свернувшаяся капля плазмы вмѣстѣ съ посаженнымъ въ ней кусочкомъ оказывалась въ висячемъ состоя-

нии въ небольшой воздушной камерѣ. Края покровнаго стекла заливались затѣмъ параффиномъ. Въмѣсто покровнаго стекла *Carrel* и *Burrows* позднѣе пользовались предметнымъ стекломъ, которое, послѣ приготовленія на немъ культуры, опрокидывалось надъ стекломъ съ углубленіемъ и заливалось по краямъ параффиномъ.

Мы приготовляли культуры на стеклахъ съ углубленіемъ нѣсколько иначе. Въ углубленіе предметнаго стекла наносилась капля жидкой плазмы, въ которую тотчасъ же помѣщался кусочекъ той или другой ткани. Углубленіе закрывалось сверху покровнымъ стекломъ, края котораго заливались параффиномъ. Если для такой культуры бралась небольшая капля плазмы, то надъ ней получалась маленькая воздушная камера. Если же плазмы наливалось больше, то все пространство между предметнымъ и покровнымъ стекломъ заполнялось ей и воздуха здѣсь совершенно не оказывалось. Въ этихъ послѣднихъ культурахъ, несмотря на отсутствіе воздушной камеры, ростъ тканей происходилъ въ теченіе первыхъ дней послѣ посадки вполне удовлетворительно.

Если культура готовится на часовомъ стеклышкѣ, то плазма и посадочный матеріалъ помѣщаются на дно его. Когда плазма свернется, то часовое стеклышко опрокидывается на предметное стекло и заливается по краямъ параффиномъ. Можно поступать и такимъ образомъ, что, не опрокидывая часового стеклышка съ помѣщенной въ немъ культурой, закрывать его другимъ часовымъ стекломъ меньшаго размѣра, и края послѣдняго заливать параффиномъ.

Кусочки ткани, назначенные для посадки, можно перенести въ посуду, въ которой готовится культура, съ помощью иглы или платиновой петли. Можно также пользоваться для этого пипеткой, въ которую насасывается Рингеровская жидкость вмѣстѣ съ мелкими кусочками посадочнаго матеріала. Небольшая капелька этой жидкости вмѣстѣ съ взвѣшенными въ ней кусочками переносится въ каплю питательной плазмы.

Для культивированія большихъ кусковъ тканей *Carrel* и *Burrows* ⁴¹⁾ предложили выращивать ихъ на широкихъ пластинкахъ. Для этого ткань или органъ разрѣзается возможно быстро на небольшіе кусочки, которые раскладываются тонкимъ слоемъ на черной стеклянной пластинкѣ и покрываются плазмой. Пластика помѣщается въ стеклянный ящикъ съ влажной атмосферой. Крышка этого ящика герметически закрывается при помощи парафина. Пластики ставятся въ наклонномъ положеніи для того, чтобы продукты секреціи культуры и продукты распада тканей могли сте-

каты и собираться на днѣ ящика. Эти продукты, такимъ образомъ, могли быть подвергнуты подробному изслѣдованію.

Для приготовленія культуръ въ чашечкахъ *Габричевскаго* предварительно наливается вода для увлаженія воздуха въ кольцевидное углубленіе на днѣ. Питательную среду съ кусочкомъ выращиваемой ткани помещаютъ на круглую площадку на днѣ чашечки. Культуры здѣсь могутъ достигать 6,5 сант. въ діаметрѣ.

Сравнительно очень просто готовить культуры въ пробиркахъ. Для этого жидкая плазма со взвѣшенными въ ней мелкими кусочками посадочнаго матеріала наливается въ небольшомъ количествѣ въ пробирку, которая быстро повертывается въ горизонтальной плоскости вокругъ своей продольной оси. Плазма застываетъ тонкимъ слоемъ по стѣнкамъ пробирки. Такимъ способомъ можно садить сразу большія количества посадочнаго матеріала. По наблюденіямъ *Carrel*'я ростъ въ приготовленныхъ такимъ образомъ культурахъ бываетъ обыкновенно хорошій.

Съ цѣлью продлить жизнь выращиваемой ткани, *Carrel* совѣтуетъ, какъ было указано выше, употреблять чашечки *Габричевскаго*, а также большія чашечки *Petri*. Кусочки здѣсь садятся на шелковую матерію, прикрѣпленную къ деревянному кубику. Шелковая матерія предварительно увлажняется Рингеровской жидкостью и затѣмъ на поверхность ея наносится при помощи пипетки посадочный матеріалъ, взвѣшенный въ Рингеровской жидкости. Послѣ этого сюда же прибавляется питательная плазма. Для удаленія продуктовъ метаморфоза культуру вмѣстѣ съ кубикомъ переносятъ на извѣстное время въ чашку съ жидкостью Рингера, какъ объ этомъ было уже сказано выше. Въ послѣднее время *Carrel* совѣтуетъ промывать культуры въ Рингеровской жидкости только въ теченіе 30 секундъ.

Для приготовленія культуръ на искусственныхъ плотныхъ питательныхъ средахъ, содержащихъ агаръ, поступаютъ слѣдующимъ образомъ. Передъ приготовленіемъ культуры питательная среда сохраняется при 45° въ жидкомъ состояніи. Если нѣсколько капель такой питательной среды перенести съ помощью пипетки въ ту или другую посуду, то она быстро охлаждается и становится желеобразной. Въ это время въ нее вносятъ кусочки посадочнаго матеріала. При дальнѣйшемъ охлажденіи питательная среда еще болѣе уплотняется.

Культуры на жидкихъ питательныхъ средахъ оказываются удачными только въ томъ случаѣ, если посадочный матеріалъ пристанетъ къ поверхности стекла. Поэтому приходится брать весьма

небольшое количество жидкости, которая тонкимъ слоемъ распределяется по поверхности стекла. Во избѣжаніе высыханія такія культуры могутъ быть приготовляемы только на такой посудѣ, въ которой запасъ воздуха ничтоженъ или же его совсѣмъ нѣтъ.

Въ нашихъ опытахъ мы приготовляли культуры почти исключительно на чашечкахъ *Petri*, особенно въ послѣднее время. Чашечки брались различнаго діаметра и высоты. Самая техника приготовленія культуръ на чашечкахъ *Petri* очень проста. На дно чашечки наливается при помощи пипетки нѣсколько капель плазмы и въ нее сейчасъ же помѣщается кусочекъ посадочнаго матеріала. На большихъ чашкахъ *Petri* можно сдѣлать по 5—6 культуръ въ каждой. Тотчасъ послѣ посадки чашка закрывается и послѣ застыванія плазмы опрокидывается вверхъ дномъ. Щелевидная полость между крышкой и дномъ заливается парафиномъ. Кромѣ чашечекъ *Petri*, мы готовили культуры на стеклахъ съ углубленіемъ и на часовыхъ стеклышкахъ. При каждомъ опытѣ мы дѣлали обыкновенно значительное количество посадокъ, въ среднемъ отъ 50 до 100. Приготовленные культуры помѣщались сейчасъ же въ термостатъ съ температурой въ 37—39° С.

Для наблюденія за ростомъ тканей разсматриваютъ культуры подъ микроскопомъ при температурѣ 37—39°. Смотря по роду посуды можно примѣнять различныя увеличенія. Культуры, приготовленные на стеклахъ съ углубленіемъ, могутъ быть изслѣдуемы при сильномъ увеличеніи, до иммерсионной системы включительно, что является важнымъ преимуществомъ такихъ культуръ. Культуры, приготовленные на часовыхъ стеклышкахъ и въ чашечкахъ *Petri* и *Габричевскаго*, позволяютъ употреблять только сравнительно слабыя увеличенія,—*Objectiv* № 3 и № 4 *Reichert*'а или *Leitz*'а. Наконецъ, если культуры посажены на деревянныхъ кубикахъ, то въ этомъ случаѣ за ростомъ культуръ можно слѣдить только макроскопически.

Нѣкоторые авторы, какъ *Comandon*, *Levaditi* и *Mutermilch* ^{44—45}) примѣняли для изученія жизни и роста клѣтокъ въ культурахъ кинематографъ. Особенно удобно, по наблюденіямъ авторовъ, слѣдить при помощи кинематографа за передвиженіемъ клѣтокъ, такъ какъ настоящая скорость движенія изображалась на лентѣ кинематографа увеличенной въ 96—300 разъ. Авторы зарегистрировали также при помощи кинематографа сокращенія кусочковъ сердца куриного зародыша.

Параллельно съ наблюденіемъ культуръ въ живомъ состояніи необходимо производить микроскопическое изслѣдованіе фиксиро-

ванныхъ и окрашенныхъ препаратовъ изъ тѣхъ же культуръ. Для этой цѣли мы ежедневно фиксировали по одному или по нѣскольکو препаратовъ и, такимъ образомъ, въ каждомъ опытѣ у насъ получалась непрерывная серія препаратовъ. По этимъ препаратамъ можно было прослѣдить изо дня въ день всѣ главнѣйшія явленія, происходившія въ культурахъ.

Для фиксаціи культуръ *Carrel* совѣтуетъ употреблять 2% формалинъ въ фізіологическомъ растворѣ поваренной соли. Мы обыкновенно для этого пользовались 4% растворомъ формалина или жидкостью *Orth'a*. Продолжительность фиксаціи формалиномъ—1—2 часа, а жидкостью *Orth'a*—около 10 часовъ.

Если слой плазмы, въ которомъ развивалась ткань, тонокъ, то препаратъ можно фиксировать и окрасить, не снимая со стекла и не разлагая его на срѣзы. Въ противномъ случаѣ приходится препаратъ послѣ фиксаціи снять со стекла, заключить въ целлоидинъ или въ парафинъ и разрѣзать на микротомѣ. Мы обыкновенно пользовались толстыми целлоидиновыми срѣзами въ 15—30 микронъ.

Фиксированные препараты окрашивались или гематоксилиномъ (однимъ или съ эозиномъ) или же краской *Giemsa*. Для окраски жира употреблялся *Sudan III* и *Nilblausulfat*.

Общій обзоръ явленій, наблюдаемыхъ въ культурахъ въ живомъ состояніи.

Въ приготовленной и помѣщенной въ термостатъ культурѣ той или другой ткани явленія жизни и размноженія посаженныхъ клѣтокъ обнаруживаются не сразу. Проходитъ нѣкоторое время, въ теченіе котораго видимыхъ измѣненій въ культурахъ не замѣчается. Этотъ промежутокъ времени названъ *Carrel'емъ* и *Burrows'ымъ* скрытымъ періодомъ роста. Въ скрытомъ періодѣ, при изслѣдованіи приготовленной культуры подъ микроскопомъ, посаженный кусочекъ представляется съ рѣзко очерченными границами; клѣточныхъ элементовъ по краямъ его или совершенно нѣтъ или же очень мало. Окружающая плазма тоже представляется обыкновенно вполне свободной отъ клѣтокъ; въ ней отчетливо выступаютъ волокна фибрина различной толщины, переплетающіяся въ видѣ сѣтки. Если посадочный матеріалъ состоитъ изъ взвѣшенныхъ въ жидкости свободныхъ клѣточныхъ элементовъ, какъ это бываетъ при посадкѣ крови или костнаго мозга, то эти клѣточные элементы, разсѣянные по питательной средѣ, хорошо различимы подъ микро-

скопомъ. Въ первое время послѣ посадки они оказываются совершенно неподвижными.

Скрытый періодъ роста для различныхъ тканей и органовъ различенъ, продолжительность его зависитъ главнымъ образомъ отъ слѣдующихъ двухъ факторовъ: 1) отъ возраста животного, у котораго берутся ткани для посадки и 2) отъ самой природы культивируемыхъ тканей.

Въ общемъ можно сказать, что чѣмъ моложе животное, у котораго берется посадочный матеріалъ, тѣмъ скрытый періодъ роста будетъ короче. Такъ, скрытый періодъ роста для эмбриональных тканей короче, чѣмъ для тканей, взятыхъ у молодого животного. Наиболѣе продолжителенъ скрытый періодъ роста въ томъ случаѣ, когда посадочный матеріалъ берется у стараго животного.

Въ зависимости отъ природы культивируемой ткани, скрытый періодъ роста точно также можетъ колебаться въ широкихъ предѣлахъ. Чѣмъ больше идиопластическая способность той или другой ткани, тѣмъ короче будетъ въ культурахъ періодъ скрытаго ея роста. Такъ, при культивированіи злокачественныхъ опухолей уже черезъ нѣсколько часовъ послѣ посадки можно замѣтить въ культурахъ жизненные явленія. Въ опытахъ *Carrel*'я и *Burrows*'а съ культивированіемъ саркомы *Rous*, черезъ 2½ часа посаженная саркоматозная ткань обнаруживала признаки большой активности, въ видѣ энергичнаго передвиженія и разсѣиванія клѣтокъ по питательной плазмѣ. Въ опытѣ съ выращиваніемъ саркомы человѣка тѣ же авторы уже черезъ 16 часовъ послѣ посадки наблюдали появленіе множества веретенообразныхъ клѣтокъ по краю посаженнаго кусочка. Въ одномъ изъ нашихъ опытовъ съ культурой саркомы человѣка на плазмѣ кролика видимыхъ проявленій жизни въ посаженномъ кусочкѣ не наблюдалось лишь въ теченіе 3 первыхъ часовъ. Крайне быстро послѣ посадки, черезъ 15—30 минутъ, обнаруживаются явленія эмиграціи бѣлыхъ кровяныхъ тѣлецъ изъ посаженнаго свертка лейкемической крови, а въ одноклеточныхъ культурахъ той же крови можно уже наблюдать явленія размноженія клѣтокъ путемъ каріокинеза, какъ это видно изъ нашихъ опытовъ. *Oppel*⁵⁹), культивируя кусочки селезенки и костнаго мозга различныхъ животныхъ въ однородной плазмѣ, наблюдалъ явленія каріокинеза клѣтокъ уже черезъ 5—7 часовъ послѣ посадки.

Эмбриональная ткань, взятая отъ зародыша въ начальныхъ стадіяхъ его развитія, по продолжительности скрытаго періода роста, близко стоитъ къ злокачественнымъ опухолямъ. Культуры же изъ зрѣлыхъ нормальныхъ тканей остаются безъ видимыхъ проявленій

жизни и безъ роста гораздо дольше, именно, отъ 24 часовъ до 4 дней. Скрытый періодъ роста для такихъ органовъ, какъ селезенка, сердце, вилочковая, щитовидная, лимфатическія железы, почка, равняется отъ 24 до 48 часовъ, смотря по возрасту животного. Соединительная ткань, брюшина, хрящъ начинаютъ прорастать только черезъ 3—4 дня послѣ посадки.

За скрытымъ періодомъ наступаетъ періодъ полного роста, который колеблется, въ зависимости отъ многихъ условій, въ предѣлахъ отъ 3 до 25 дней! Первые признаки роста обнаруживаются въ появленіи по краямъ посаженного кусочка клѣтокъ различной величины и формы. При культивированіи костнаго мозга, селезенки, легкаго, сердца, кожи, щитовидной, вилочковой и лимфатическихъ железъ и нѣкоторыхъ другихъ тканей вначалѣ обыкновенно появляется вокругъ кусочка большее или меньшее количество блуждающихъ элементовъ, быстро измѣняющихъ свою форму и мѣстоположеніе. Эти блуждающіе элементы состоятъ большею частью изъ бѣлыхъ кровяныхъ тѣлецъ, эмигрирующихъ изъ посаженного кусочка въ окружающую плазму. Кромѣ лейкоцитовъ среди эмигрирующихъ круглыхъ клѣтокъ находятся въ большемъ или меньшемъ количествѣ другого рода элементы, какъ напр., соединительно-тканныя клѣтки во многихъ культурахъ, саркоматозныя и раковыя клѣтки въ соотвѣтствующихъ посадкахъ и т. п. Явленія эмиграціи клѣтокъ, естественно, еще нельзя считать за начало роста культуры.

Наступленіе собственно роста обнаруживается появленіемъ по краямъ кусочка клѣточныхъ выступовъ, состоящихъ изъ веретенообразныхъ, отростчатыхъ крупныхъ элементовъ, соединяющихся большею частію между собой отростками и образующихъ новую ткань. Конечно, въ зависимости отъ природы посаженной ткани, видъ растущей культуры можетъ быть крайне различенъ. Въ нѣкоторыхъ культурахъ, какъ напр., въ культурахъ лейкемической крови и костнаго мозга, преобладаютъ блуждающіе элементы, не большой величины. Часть этихъ блуждающихъ клѣтокъ размножается путемъ дѣленія и такимъ образомъ число ихъ увеличивается, но даже и въ этихъ культурахъ скоро появляются веретенообразныя и отростчатые элементы. При культивированіи же большинства другихъ тканей и органовъ, какъ селезенка, сердце, легкое, лимфатическая железа и т. п., главная масса новообразованной ткани состоитъ изъ веретенообразныхъ и отростчатыхъ клѣтокъ. Въ этомъ случаѣ отъ всей периферіи кусочка направляются въ стороны въ видѣ лучей или нѣжныхъ развѣтвленій отростчатая и ве-

ретеннообразныя клѣтки, виѣдряясь въ питательную среду и представляя изъ себя настоящую новообразованную крупно-петлистую ткань. Пространство, занятое этой рыхлой тканью, бываетъ иногда очень значительно. Такъ, *Carrel* указываетъ, что въ одной культурѣ селезенки черезъ 27 часовъ послѣ посадки это пространство въ 40 разъ превосходило площадь, занятую кусочкомъ.

Что эти вытянутыя клѣтки энергично размножаются, это доказывается значительнымъ количествомъ фигуръ дѣленія ихъ на фиксированныхъ и окрашенныхъ препаратахъ. *Carrel*’ю и *Burrows*’у удавалось и при жизни наблюдать процессъ дѣленія клѣтокъ. *Lambert* и *Hanes*²³⁾ изучали подробно процессъ каріокинетическаго дѣленія клѣтокъ въ живыхъ культурахъ. Если клѣтка вытянута, то она большею частію передъ дѣленіемъ принимаетъ круглую форму; затѣмъ наступаютъ обычныя измѣненія въ ядрѣ, хорошо видимыя подъ микроскопомъ. Продолжительность процесса дѣленія стоитъ въ зависимости отъ многихъ условій: отъ температуры, отъ природы растущей ткани, отъ вида животного и т. п. Такъ, соединительно-тканныя клѣтки кошки заканчиваютъ процессъ дѣленія въ 15—30 минутъ, а таковыя же клѣтки крысы—въ 25—45 минутъ. Большая часть времени уходитъ на образованіе экваторіальной пластинки. Если клѣтка снабжена очень длинными отростками, то отростчатая форма ея иногда сохраняется и во время дѣленія.

Но кромѣ вышеупомянутыхъ клѣтокъ, при культивированіи нѣкоторыхъ органовъ *Carrel* и *Burrows* наблюдали на живыхъ культурахъ ростъ и специфическихъ элементовъ. Такъ, они⁴⁾ описываютъ ростъ почечнаго эпителія въ видѣ трубокъ, направляющихся отъ посаженнаго кусочка почки въ окружающую плазму; описываютъ появленіе массы полигональных клѣтокъ, располагающихся въ плазмѣ въ видѣ выступовъ при культивированіи щитовидной железы⁸⁾. Эти полигональныя клѣтки, по ихъ мнѣнію, представляютъ изъ себя эпителій щитовидной железы. Далѣе, ими наблюдался ростъ хрящевыхъ клѣтокъ при выращиваніи хряща, ростъ эндотелія брюшины при выращиваніи кусочка этой ткани.

И мы сами имѣли возможность наблюдать ростъ эпителія мочевого пузыря и ростъ хрящевыхъ клѣтокъ на нашихъ посадкахъ. (Рис. XI и XIII).

Энергія роста культивируемой ткани постепенно возрастаетъ и достигаетъ на 3—6-й день послѣ посадки наибольшаго развитія. Объ энергіи роста можно судить и по макроскопическимъ призна-

камъ. До наступленія роста посаженный кусочекъ представляетъ рѣзко ограниченнымъ отъ окружающей среды. Съ началомъ роста контуры кусочка слегка ступеньчатые, затѣмъ появляется вокругъ него бѣлесоватое опаковое колечко. По мѣрѣ роста ширина этого колечка постепенно увеличивается и превосходитъ иногда въ нѣсколько разъ своимъ размѣромъ площадь, занятую посаженнымъ кусочкомъ.

Достигнувъ извѣстнаго maximum'a, энергія роста культуры начинаетъ постепенно уменьшаться и наконецъ ростъ ея совсѣмъ прекращается. Далѣе, наступаетъ гибель всѣхъ, какъ посаженныхъ, такъ и выросшихъ клѣтокъ. Ткани, которыя развиваются быстро, какъ напр., саркома или ткани зародыша, и погибаютъ довольно скоро, тогда какъ культуры брюшины, хряща, растущія очень медленно, остаются живыми въ теченіе 18—20 дней.

Объ угасаніи жизни культивируемыхъ клѣтокъ можно судить по наблюдаемымъ подъ микроскопомъ явленіямъ. Даже въ молодыхъ культурахъ многія клѣтки оказываются содержащими въ своей протоплазмѣ крупныя блестящія зерна, какъ результатъ жирового перерожденія. Подвижность блуждающихъ элементовъ ослабѣваетъ или совершенно прекращается. Затѣмъ контуры клѣтки становятся неясными, протоплазма мутнѣетъ, и клѣтка постепенно распадается въ мелкозернистую массу. Обыкновенно на ряду съ погибшими клѣтками можно найти большее или меньшее количество вполне жизнеспособныхъ и размножающихся элементовъ. На фиксированныхъ и окрашенныхъ препаратахъ погибшія клѣтки легко отличаются отъ остальныхъ элементовъ потерей способности воспринимать ядерныя краски.

Постепенная остановка роста и гибель клѣтокъ, вначалѣ такъ энергично размножавшихся, зависитъ, какъ доказали это *Carrel* и *Burrows*, отъ истощенія питательной среды и отъ накопленія въ ней продуктовъ обмѣна веществъ. Какъ мы уже видѣли, *Carrel*'ю и *Burrows*'у удалось путемъ промыванія культуръ въ Рингеровской жидкости и послѣдующаго добавленія новой плазмы продлить жизнь клѣтокъ внѣ организма на очень долгое время.

Мы пробовали примѣнять въ нашихъ опытахъ предложенные *Carrel*'емъ и *Burrows*'ымъ способы продленія жизни выращиваемой ткани. Такъ, мы приготавливали вторичныя культуры, перенося кусочки растущей ткани изъ старой культуры въ новую плазму; образовавшееся углубленіе въ старой культурѣ на мѣстѣ удаленнаго кусочка заливали новой плазмой, но ни въ томъ, ни въ другомъ случаѣ сколько-нибудь замѣтнаго продленія жизни

посаженной ткани не наблюдали. Также неудачной оказалась попытка продлить жизнь при помощи промывания культуръ въ Рингеровской жидкости при 0° въ теченіе отъ $\frac{1}{2}$ часа до 24 часовъ, съ послѣдующимъ добавленіемъ свѣжей плазмы. Обыкновенно большая часть культуръ при этихъ манипуляціяхъ гибла, вслѣдствіе бактеріальнаго загрязненія. Почему въ культурахъ, оставшихся стерильными отъ бактерій, не наблюдалось у насъ сколько-нибудь замѣтнаго усиленія роста, сказать мы не можемъ.

Общая характеристика растущихъ клѣтокъ.

Послѣ краткаго описанія явленій, наблюдаемыхъ въ культурахъ, необходимо остановиться на вопросѣ о природѣ растущихъ клѣтокъ. Это тѣмъ болѣе необходимо, что въ данномъ направленіи чувствуется въ литературѣ большой пробѣлъ.

Первый вопросъ, который подлежитъ здѣсь разсмотрѣнію, это вопросъ о способности специфическихъ элементовъ посаженной ткани къ росту и размноженію внѣ организма. Какъ уже было упомянуто, при культивированіи самыхъ разнообразныхъ органовъ и тканей встрѣчаются въ большемъ или меньшемъ количествѣ блуждающія и вытянутыя клѣтки. Послѣднія имѣютъ веретенообразную форму, или снабжены многочисленными разнообразными отростками, при помощи которыхъ онѣ часто анастомозируютъ другъ съ другомъ. Мы разсмотримъ позднѣе эти элементы, не представляющіе собой чего-либо специфическаго для той или другой ткани.

Что касается вопроса о способности специфическихъ элементовъ къ росту и размноженію въ культурахъ, то въ этмъ отношеніи нѣтъ полнаго согласія во взглядахъ между различными авторами.

*Hadda*¹⁴⁾ смотритъ скептически на описаніе *Carrel*'я и *Burrows*'а относительно роста эпителія почекъ и щитовидной железы. Повторя опыты *Carrel*'я, онъ наблюдалъ при этомъ только ростъ веретенообразныхъ клѣтокъ, не имѣющихъ специфическаго характера. Источникъ происхожденія этихъ веретенообразныхъ клѣтокъ не ясенъ. По мнѣнію *Hadda*, не извѣстно, соединительно-тканной природы эти клѣтки или нѣтъ. Въ позднѣйшей своей работѣ *Hadda* совмѣстно съ *Rosenthal*'емъ³³⁾ высказываютъ въ общемъ тотъ же взглядъ на характеръ растущихъ клѣтокъ. Такъ, они думаютъ, что клѣтки при выращиваніи *in vitro* теряютъ свои специфическія особенности, въ результатъ чего при культивиро-

ваніи самыхъ разнообразныхъ органовъ и тканей развиваются одни и тѣ же отростчатые и веретенообразные элементы неопредѣленной природы.

*Weil*⁵⁶⁾ также указываетъ на трудность опредѣлить природу растущихъ клѣтокъ, такъ какъ онѣ въ культурахъ не проявляютъ наклонности къ расположенію въ видѣ характерныхъ группъ, какъ въ живомъ организмѣ. Въ культурахъ кусочковъ почки печени онъ ни разу не видѣлъ ни развитія новыхъ канальцевъ изъ почечныхъ клѣтокъ, ни образованія балокъ изъ печеночныхъ клѣтокъ. Точно также въ новообразованныхъ клѣткахъ при выращиваніи сердечной мышцы ему не удалось замѣтить никакой поперечной исчерченности.

Doyen, *Lytchowsky* и *Browne*⁴⁶⁾ придерживаются такихъ же взглядовъ, какъ *Hadda*, *Rosenthal* и *Weil*. При культивированіи почки они ни разу не наблюдали роста почечнаго эпителія; росли и размножались лишь наименѣ дифференцированные элементы соединительно-тканной природы.

Нѣсколько иные результаты получилъ *Champy*⁴⁷⁾ при культивированіи кусочковъ почки зародыша кролика на материнской плазмѣ. Въ его культурахъ эпителіальныя клѣтки мочевыхъ канальцевъ размножались и образовали новыя извитыя трубочки. Но вновь образованный эпителий имѣлъ упрощенное строеніе, безъ всякой дифференціаціи, свойственной почечному эпителию. Черезъ 48 часовъ послѣ посадки новообразованныя эпителіальныя трубочки лопались, и эпителіальныя клѣтки смѣшивались съ разросшейся соединительной тканью. Скоро становилось невозможнымъ отличить соединительно-тканныя клѣтки отъ эпителіальныхъ. Итакъ, заключаетъ *Champy*, происходитъ постепенное упрощеніе элементовъ мочевыхъ канальцевъ, сперва въ обыкновенный эпителий, а затѣмъ въ индифферентныя клѣтки.

Но наряду съ этими наблюденіями, говорящими противъ возможности выращивать специфическіе элементы различныхъ органовъ и тканей, имѣется цѣлый рядъ противоположныхъ данныхъ.

Еще *Harrison*¹⁾, культивируя нервныя клѣтки зародыша лягушки въ свернувшейся лимфѣ, наблюдалъ образованіе новыхъ нервныхъ волоконъ. Позднѣе *Burrows*¹⁾ наблюдалъ такое же развитіе нервовъ въ культурахъ изъ кусочковъ центральной нервной системы зародыша цыпленка. Изъ кусочковъ нервной трубки зародыша цыпленка вырастали въ окружающую плазму длинныя тонкія нервныя нити. Эти нити оканчивались вздутыми концами, постоянно измѣнявшими свою форму и снабженными длинными

рѣсничками. Авторъ обработалъ эти нити по способу *Cajal*'я и по способу *Held*'а и убѣдился въ нервной природѣ ихъ.

Какъ мы уже упоминали, *Carrel* и *Burrows* въ первыхъ своихъ сообщеніяхъ описывали ростъ на культурахъ такихъ дифференцированныхъ элементовъ, какъ эпителий почки, щитовидной железы, какъ клѣтки хряща и эндотелія брюшины.

Lambert и *Hanes* ²³), на основаніи своихъ многочисленныхъ опытовъ съ культурами эпителия и соединительной ткани, указываютъ на характерное различіе въ ростѣ эпителиальныхъ и соединительно-тканыхъ клѣтокъ *in vitro*. Эпителиальныя клѣтки растутъ сплошной массой въ видѣ пластинокъ, толщиной большею частію въ одну клѣтку; границы клѣтокъ не ясны. Наоборотъ, соединительно-тканныя клѣтки въ культурахъ располагаются изолированно одна отъ другой, лишь иногда соединяясь между собой при помощи своихъ длинныхъ отростковъ.

Мы тоже въ своихъ опытахъ не разъ имѣли возможность убѣдиться въ способности специфическихъ элементовъ къ росту. Такъ, намъ удалось получить хорошія культуры эпителия мочевого пузыря, взятаго у щенка и культивированнаго на плазмѣ матери. (Рис. XI). При этомъ эпителиальныя клѣтки росли сплошной массой въ нѣсколько рядовъ, такъ что расположеніе ихъ въ культурахъ было въ общемъ характерно для покровнаго эпителия. Хорошо также развивался у насъ эпителий кожи зародыша кролика; и здѣсь эпителиальныя клѣтки располагались довольно правильными рядами. При выращиваніи легкаго мы наблюдали размноженіе каріокинезомъ альвеолярнаго эпителия. Но намъ ни разу не удалось получить роста эпителия щитовидной железы и печени. Ростъ почечнаго эпителия былъ въ нашихъ культурахъ тоже очень слабый. Правда, въ нѣкоторыхъ культурахъ намъ удавалось наблюдать какъ-бы образованіе небольшихъ выступовъ, являющихся продолженіемъ почечныхъ канальцевъ; изрѣдка среди эпителия, образующаго эти выступы, попадались фигуры дѣленія. Мы пробовали также культивировать кусочки слюнныхъ железъ и кусочки поджелудочной железы, но роста эпителия при этомъ не наблюдали. При выращиваніи хряща, взятаго изъ эпифіза бедра щенка, получался у насъ ясный ростъ и размноженіе хрящевыхъ элементовъ. (Рис. XIII). Наконецъ, въ культурахъ костнаго мозга и особенно въ культурахъ лейкемической крови мы наблюдали энергичное размноженіе путемъ каріокинеза такихъ дифференцированныхъ элементовъ, какъ нейтрофильные и эозинофильные міэлоциты. (Рис. I, 7 и 8).

Болѣе подробное описаніе роста и размноженія различныхъ клѣтокъ будетъ сдѣлано ниже, при изложеніи нашихъ опытовъ съ культивированіемъ отдѣльныхъ тканей и органовъ.

Итакъ, едва ли можно сомнѣваться въ томъ, что специфическіе элементы могутъ жить и размножаться внѣ организма, хотя болѣею частію ростъ ихъ происходитъ значительно слабѣе, чѣмъ ростъ недифференцированныхъ клѣтокъ.

Теперь мы перейдемъ къ описанію тѣхъ клѣточныхъ формъ, которыя встрѣчаются почти безъ исключенія на всѣхъ культурахъ, независимо отъ характера культивируемой ткани. Для того, чтобы не повторяться въ дальнѣйшемъ, мы считаемъ необходимымъ сдѣлать здѣсь по возможности подробный разборъ природы этихъ элементовъ.

Мы уже раздѣлили неспецифическіе элементы на двѣ группы: 1) на клѣтки подвижныя, представляющія изъ себя болѣею частію лейкоцитовъ крови, и 2) на клѣтки вытянутой, веретенообразной или отростчатой формы.

Главная масса, входящая въ группу подвижныхъ клѣтокъ, состоитъ изъ нейтрофильныхъ лейкоцитовъ, попадающихъ въ культуру вмѣстѣ съ кусочкомъ ткани или органа. При изслѣдованіи въ живомъ состояніи съ сильнымъ увеличеніемъ, въ протоплазмѣ ихъ видна очень мелкая зернистость, находящаяся въ постоянномъ движеніи. Эти элементы являются крайне подвижными, быстро перемѣщаются съ одного мѣста на другое при помощи протоплазматическихъ отростковъ. Выселяясь изъ посаженного кусочка въ окружающую плазму, они иногда скопляются въ видѣ микроскопическихъ гнойничковъ вокругъ инородныхъ тѣлъ или случайныхъ колоній бактерій. Особенно много нейтрофильныхъ лейкоцитовъ встрѣчается на культурахъ изъ костнаго мозга и лейкемической крови. (Рис. I, 9 и 10). Эти элементы не способны къ какимъ-либо прогрессивнымъ измѣненіямъ, хотя они и сохраняютъ свою подвижность въ культурахъ сравнительно долгое время, до 10 дней и болѣе. Въ концѣ концовъ они погибаютъ, распадаясь въ мелко-зернистую массу:

Кромѣ полиморфно-ядерныхъ нейтрофиловъ, почти во всѣхъ культурахъ можно встрѣтить въ небольшомъ количествѣ также эозинофильныхъ и базофильныхъ лейкоцитовъ. Особенно много этихъ элементовъ находится въ культурахъ лейкемической крови и костнаго мозга. При изслѣдованіи живыхъ культуръ, въ протоплазмѣ этихъ элементовъ можно замѣтить блестящіе крупныя зерна въ значительномъ количествѣ. На фиксированныхъ и окра-

шенныхъ препаратахъ эозинофилы и базофилы легко распознаются, благодаря присутствію въ ихъ протоплазмѣ специфическихъ зернистостей. Впрочемъ нужно замѣтить, что отыскать базофиловъ въ культурахъ лейкемической крови и костнаго мозга представляется дѣломъ довольно труднымъ, такъ какъ зернистости этихъ клѣтокъ легко растворяются при обработкѣ препаратовъ въ водныхъ растворахъ. Поэтому для отысканія ихъ въ этихъ культурахъ приходится фиксировать препараты абсолютнымъ алкоголемъ. Зернистость хорошо окрашивается по способу *May-Giemsa*.

Клѣтки, снабженныя базофильной зернистостью, встрѣчаются, кромѣ лейкемической крови и костнаго мозга, и въ другихъ посадкахъ, какъ напр., въ посадкахъ сердца, легкаго, селезенки и т. д. Въ этихъ случаяхъ зернистость тучныхъ клѣтокъ не растворяется при приготовленіи препарата и отчетливо выступаетъ на окрашенныхъ срѣзахъ. Эозинофилы и базофилы сохраняютъ свою жизнеспособность довольно долго, въ среднемъ около 10 дней.

Гораздо больший интересъ, чѣмъ лейкоциты, представляютъ другого рода элементы, встрѣчающіеся во всѣхъ удачныхъ культурахъ самыхъ разнообразныхъ органовъ и тканей, не исключая и культуръ лейкемической крови. Въ большинствѣ культуръ они составляютъ главную массу новообразованныхъ клѣтокъ. Эти клѣтки отличаются большимъ разнообразіемъ по своей величинѣ и формѣ. Онѣ очень рѣзко выдѣляются среди остальныхъ элементовъ своими длинными остроконечными, иногда вѣтвистыми отростками, или же своей веретенообразной формой. Очень легко ихъ узнать и на живыхъ культурахъ, благодаря ихъ формѣ и значительной величинѣ: При сильномъ увеличеніи въ протоплазмѣ ихъ замѣчается множество крупныхъ круглыхъ блестящихъ, почти одинаковаго размѣра зеренъ. Большею частью эти зерна располагаются въ тѣлѣ клѣтки въ одинъ слой, что зависитъ отъ плоской формы клѣтки. Въ длинныхъ протоплазматическихъ отросткахъ клѣтокъ находятся такія же зерна. Если отростокъ тонокъ, то зерна здѣсь располагаются въ одинъ рядъ. Мѣстами по ходу такихъ тонкихъ отростковъ зернистость прерывается, и тогда въ этомъ мѣстѣ лишь съ усиліемъ можно замѣтить тончайшія, слабо преломляющія свѣтъ волокна. Интересно, что такіе несодержащіе зеренъ фокусы оказываются иногда и въ болѣе центральныхъ частяхъ клѣтки. Блестящія зерна находятся въ постоянномъ движеніи по отношенію другъ къ другу. Иногда можно видѣть, какъ такія зерна перемѣщаются черезъ вышеупомянутые фокусы, несодержащіе зеренъ. Въ одномъ мѣстѣ клѣтки, обыкновенно ближе къ центру ея, имѣется свѣтлое пятно, большею ча-

стью овальной формы, свободное от блестящих зеренъ. Это есть ядро клѣтки. Въ немъ иногда замѣтно нѣсколько (1—3) ядрышекъ. въ видѣ темныхъ пятнышекъ. Большинство клѣтокъ имѣетъ значительное количество отростковъ, отходящихъ въ различныхъ направленіяхъ отъ клѣтки. Отростки постепенно утончаются, давая иногда боковыя развѣтвленія, направленные слегка въ сторону. Отростки и развѣтвленія ихъ или оканчиваются свободно заостренными концами, или же соединяются съ таковыми же отростками сосѣднихъ клѣтокъ. Последнее встрѣчается довольно часто тамъ, гдѣ клѣтокъ много.

Кромѣ элементовъ, снабженныхъ многочисленными отростками, встрѣчаются часто клѣтки и съ малымъ количествомъ отростковъ или же просто клѣтки вытянутой веретенообразной формы, суженные концы которыхъ постепенно утончаются.

Клѣтки со многими отростками и веретенообразныя клѣтки относятся. несомнѣнно, къ одной и той же группѣ, такъ какъ строеніе протоплазмы и ядра въ нихъ совершенно одинаково, и такъ какъ можно найти разнообразныя переходныя формы между ними. При дальнѣйшемъ описаніи мы будемъ называть эти элементы *отростчатыми клѣтками*, каковое названіе мы дали имъ раньше въ опубликованной нами работѣ о выращиваніи лейкемической крови.

Появленіе отростчатыхъ клѣтокъ служить въ большинствѣ культуръ первымъ признакомъ роста. Обыкновенно эти элементы въ такихъ культурахъ, какъ сердце, селезенка, легкое, щитовидная железа, почка, печень и пр., появляются по краямъ посаженного кусочка на второй день роста культуры, въ видѣ стрѣловидныхъ выступовъ. Быстро увеличиваясь въ количествѣ, они вмѣстѣ съ большими, круглыми, подвижными клѣтками, о которыхъ мы скажемъ позднѣе, образуютъ вокругъ посаженного кусочка иногда очень густую, иногда сравнительно рѣдкую петлистую новообразованную ткань. (Рис. VII).

Въ нѣкоторыхъ случаяхъ даже при культивированіи вышеперечисленныхъ органовъ и тканей отростчатыя клѣтки появляются непосредственно по краямъ кусочка, а на нѣкоторомъ разстояніи отъ него. (Рис. IX и XIII). Въ этомъ случаѣ передъ появленіемъ отростчатыхъ элементовъ обыкновенно можно бываетъ найти на нѣкоторомъ разстояніи отъ кусочка крупныя блуждающія клѣтки. (Рис. XII). Какъ видно будетъ изъ дальнѣйшаго изложенія, изъ этихъ крупныхъ подвижныхъ клѣтокъ, по всей вѣроятности, и развиваются отростчатые элементы, хотя, можетъ

быть, и не во всѣхъ случаяхъ. При культивированіи костного мозга и лейкемической крови отростчатыя клѣтки развиваются, несомнѣнно, изъ блуждающихъ крупныхъ элементовъ. (Рис. II). Въ культурахъ лейкемической крови отростчатыя клѣтки обыкновенно располагаются непосредственно по поверхности стекла, къ которому онѣ прикрѣпляются своими длинными отростками. (Рис. V).

По наблюденіямъ многихъ авторовъ, какъ *Lambert*, *Hanes* ²³), *Comandon*, *Levaditi*, *Mutermilch* ⁴⁴), *Doyen*, *Lytchkowski*, *Browne* ⁴⁶) и др., отростчатыя клѣтки обладаютъ амебовидной подвижностью, хотя въ гораздо болѣе слабой степени, чѣмъ обыкновенные блуждающіе элементы. По описаніямъ этихъ авторовъ, отростчатыя клѣтки при своемъ появленіи вокругъ посаженного кусочка какъ бы скользятъ одна около другой въ видѣ общей массы. Отростки у клѣтокъ то исчезаютъ, то появляются вновь. Но вѣроятно, что, когда развивается густая новообразованная ткань, состоящая изъ соединенныхъ другъ съ другомъ отростчатыхъ элементовъ, подвижность клѣтокъ значительно ослабѣваетъ.

На фиксированномъ и окрашенномъ препаратѣ видъ отростчатой клѣтки представляется тоже очень характернымъ. (Рис. II, 6; IV, 9; V; VII, 4; VIII; IX, 2; X, 5; XIII, 5, 6). Протоплазма у ней окрашивается довольно слабо базофильными красками. Она имѣетъ обыкновенно ясно выраженное ячеистое строеніе. Въ нѣкоторыхъ клѣткахъ ячейки правильной круглой формы и почти одинаковой величины. Въ другихъ же на ряду съ небольшими ячейками встрѣчаются очень крупныя, напоминающія собой вакуоли. На окрашенныхъ препаратахъ особенно хорошо выступаетъ соединеніе клѣтокъ между собой при помощи отростковъ. (Рис. V и VII). Въ нѣкоторыхъ отростчатыхъ клѣткахъ въ протоплазмѣ, въ особыхъ вакуоляхъ встрѣчаются захваченныя и подвергающіяся внутриклеточному перевариванію красныя и бѣлыя кровяныя тѣльца.

Ядро у отростчатыхъ клѣтокъ имѣетъ большею частью овальную форму. Въ немъ обыкновенно хорошо замѣтно одно—три ядрышка. Кромѣ ядрышекъ, въ ядрѣ часто бываютъ видны мелкія хроматиновые зерна. Въ культурахъ лейкемической крови всѣ отростчатыя клѣтки имѣютъ рѣзко контурированное ядро. (Рис. II, 6; IV, 9; V). Въ другихъ же культурахъ на ряду съ клѣтками, имѣющими контурированныя ядра, встрѣчаются и другія, у которыхъ въ ядрѣ не замѣтно никакой оболочки.

Овальная форма ядра встрѣчается далеко не у всѣхъ отростчатыхъ клѣтокъ. У нѣкоторыхъ изъ нихъ ядро имѣетъ неправильную

форму, снабженную боковыми выступами, у другихъ оно бухтообразно. Встрѣчается довольно не мало и такихъ клѣтокъ, у которыхъ имѣется по два ядра.

Величина отростчатыхъ клѣтокъ очень различна. На ряду съ мелкими элементами встрѣчаются и очень крупные. Послѣдніе встрѣчаются чаще, чѣмъ первые. Но и мелкія отростчатыя клѣтки по своей величинѣ гораздо крупнѣе лейкоцитовъ.

Отростчатыя клѣтки размножаются въ культурахъ довольно энергично при помощи каріокинеза. (Рис. VII, 5; IX, 3). Наибольшее количество фигуръ дѣленія среди этихъ элементовъ встрѣчается на 3—5 день жизни культуры. Но первыя фигуры дѣленія можно найти уже при самомъ началѣ появленія этихъ клѣтокъ, т. е. въ одно-двухдневныхъ культурахъ. Дѣлящіяся клѣтки по своей формѣ нѣсколько отличаются отъ находящихся въ покойномъ состояніи. Длинные вѣтвистые отростки клѣтокъ во время дѣленія болѣею частію исчезаютъ, но вытянутая форма клѣтки иногда сохраняется ясно. (Рис. VII, 5).

Повидимому, эти элементы могутъ размножаться также и прямымъ путемъ. Это особенно вѣроятно для культуръ лейкемической крови, гдѣ, несмотря на значительное появленіе этихъ элементовъ, фигуръ каріокинетическаго дѣленія почти не встрѣчается. За это предположеніе говоритъ нахожденіе и такихъ клѣтокъ, у которыхъ ядро обнаруживаетъ признаки прямого дѣленія въ видѣ перетяжекъ. Кромѣ того, у нѣкоторыхъ элементовъ, имѣющихъ по два покоящихся ядра, можно замѣтить дѣленіе протоплазмы. Фигуры дѣленія отростчатыхъ клѣтокъ встрѣчаются и на старыхъ 8—10 дневныхъ культурахъ, хотя и въ незначительномъ количествѣ.

Отростчатыя клѣтки содержатъ въ своей протоплазмѣ значительное количество жира. Жировыя капельки, окрашивающіяся суданомъ въ красный цвѣтъ, заполняютъ какъ тѣло клѣтки, такъ и ея отростки. Онѣ имѣютъ болѣею частію правильную, круглую форму и соотвѣтствуютъ тѣмъ блестящимъ зернамъ, которыя хорошо видны въ этихъ клѣткахъ въ живомъ состояніи. При окраскѣ *Nilblausulfat*'омъ жировыя капельки въ этихъ клѣткахъ окрашиваются въ фіолетовый цвѣтъ, что указываетъ на отсутствіе жирныхъ кислотъ. Жирныя кислоты отъ *Nilblausulfat*'а окрашиваются въ синій цвѣтъ. Нейтральный характеръ жира указываетъ на питательное значеніе его для клѣтки. Нейтральный характеръ жировыхъ включеній въ культивируемыхъ клѣткахъ отмѣчается и другими авторами, какъ *Lambert* и *Hanes* ²³), *Кринтовскій*, *Полевъ* ³¹). По изслѣдованіямъ *Lambert*'а и *Hanes*'а жировыя капельки появля-

ются сперва въ периферическихъ частяхъ протоплазмы, тогда какъ пространство около ядра занято Альтманновской зернистостью. *Lambert* и *Hanes* считаютъ весьма вѣроятнымъ, что Альтманновская зернистость играетъ важную роль въ ассимиляціи жировъ.

Отростчатая клѣтка, развивающіяся при культивированіи разнообразныхъ органовъ и тканей, относятся, по всей вѣроятности, къ фиксированнымъ соединительно-тканымъ элементамъ. Тотъ фактъ, что онѣ вырастаютъ на такихъ культурахъ, какъ культуры костного мозга и лейкемической крови, ставить ихъ, по крайней мѣрѣ въ этихъ случаяхъ, въ близкое родство съ бѣлыми кровяными тѣльцами.

Если мы теперь обратимся къ фиксированнымъ элементамъ соединительной ткани, которые по своей морфологіи болѣе или менѣе подходятъ къ отростчатымъ клѣткамъ, то намъ придется дѣлать выборъ между фибробластами, плазматоцитами *Ranvier* и фиксированными полибластиами *Максимова*.

Но прежде чѣмъ относить ихъ къ тѣмъ или другимъ элементамъ, посмотримъ, какіе взгляды существуютъ въ литературѣ по этому вопросу. Къ сожалѣнію, природа этихъ элементовъ почти еще совершенно не выяснена. *Carrel* и *Burrows* относятъ эти элементы въ своихъ культурахъ къ соединительно-тканымъ, но болѣе точнаго опредѣленія природы ихъ они не даютъ. По мнѣнію *Hadda* и *Rosenthal*'я³³), даже нельзя еще въ настоящее время съ увѣренностью рѣшить, соединительно-тканной онѣ природы, или нѣтъ. Они высказываютъ предположеніе, что при культивированіи самыхъ разнообразныхъ элементовъ, какъ эпителиальныхъ, соединительно-тканыхъ и другихъ, вырастаютъ вышеописанныя отростчатая клѣтки; слѣдовательно, по ихъ мнѣнію, эти элементы рѣзко отличаются по своему происхожденію отъ всѣхъ извѣстныхъ намъ клѣточныхъ группъ животнаго организма. Значительное упрощеніе клѣтокъ при культивированіи ихъ внѣ организма отмѣчается и нѣкоторыми другими авторами. Такъ, *Chamny*⁴⁷) указываетъ, что въ 3-дневныхъ культурахъ почки ему не удавалось отличить размножавшійся почечный эпителий отъ соединительной ткани,—настолько структура клѣтокъ упростилась. *Шамовъ*⁴²) считаетъ отростчатая клѣтки за несомнѣнныхъ фибробластовъ, хотя онъ и не приводитъ какихъ-либо доказательствъ въ пользу такого заключенія. *Foot*³⁴), наблюдавшій такіа клѣтки въ культурахъ костн. мозга курицы, называетъ ихъ *x* клѣтками и относить или къ индифференцированнымъ клѣткамъ или же къ лимфоцитарнымъ и мѣло-

бластическимъ элементамъ к. мозга. Другіе авторы почти не касаются вопроса о природѣ растущихъ клѣтокъ.

Природа отростчатыхъ клѣтокъ. Мы видимъ, такимъ образомъ, насколько далека еще отъ разрѣшенія вопросъ о природѣ отростчатыхъ клѣтокъ. Въ виду того, что эти элементы образуются въ культурахъ лейкемической крови и костного мозга изъ кровяныхъ клѣтокъ, слѣдуетъ прежде всего подумать, не родственны ли отростчатая клѣтки клазматоцитамъ *Ranvier*^{48—50}).

Клазматоциты образуются изъ лимфоидныхъ элементовъ, которые эмигрируютъ изъ кровеносныхъ сосудовъ въ ткани, гдѣ они затѣмъ подвергаются разнообразнымъ превращеніямъ. Значительно гипертрофируясь, эти вначалѣ небольшія клѣтки теряютъ амёбовидную подвижность и превращаются въ фиксированные элементы, снабженные многочисленными протоплазматическими отросточными выступами. Слѣдовательно, для отростчатыхъ клѣтокъ лейкемической крови и костного мозга сходство съ клазматоцитами основывается, помимо морфологій, также и на происхожденіи ихъ. И тѣ и другія клѣтки имѣютъ гематогенное происхожденіе, образуясь путемъ гипертрофіи лимфоидныхъ элементовъ. Многоотростчатая форма клѣтокъ и характеръ ядра у тѣхъ и другихъ въ общемъ одинаковы. Но все же отростчатая клѣтки не вполне тождественны съ клазматоцитами. Такъ, однимъ изъ характерныхъ признаковъ клазматоцитовъ является присутствіе въ протоплазмѣ особой зернистости, окрашивающейся ядерными красками. Однако въ отростчатыхъ клѣткахъ этой зернистости найти не удастся. Далѣе, клазматоциты, по наблюденіямъ *Ranvier*, никогда не анастомозируютъ другъ съ другомъ своими отростками, между тѣмъ какъ отростчатая клѣтки очень часто соединяются между собой при помощи отростковъ. Кромѣ того, въ культурахъ такихъ органовъ, какъ сердце, легкое, гдѣ отростчатая клѣтки развиваются въ огромномъ количествѣ, трудно допустить, что всѣ онѣ происходятъ изъ лимфоидныхъ элементовъ или изъ тѣхъ клазматоцитовъ, которые встрѣчаются въ небольшомъ количествѣ во всякой соединительной ткани.

Противъ второго допущенія, что отростчатая клѣтки представляютъ изъ себя фиксированныхъ полибластовъ *Максимова*^{51—53}), можно сдѣлать также нѣкоторыя возраженія. Правда, наши отростчатая клѣтки въ культурахъ лейкемической крови и костного мозга развиваются изъ гипертрофированныхъ клѣтокъ, стоящихъ весьма близко къ полибластамъ *Максимова*. Тоже самое иногда удается наблюдать и въ культурахъ другихъ органовъ. Но во многихъ, од-

нако, случаяхъ, несмотря на обильное развитіе отростчатыхъ,—гипертрофированныхъ клѣтокъ, какъ предшествующей стадіи ихъ развитія, почти не встрѣчается. И здѣсь такъ же, какъ и въ отношеніи клазматоцитовъ, трудно допустить, чтобы всѣ развивающіеся отростчатые элементы происходили изъ обыкновенныхъ полибластовъ. Противъ того же допущенія говоритъ также слишкомъ однообразный типъ строенія отростчатыхъ клѣтокъ, равнымъ образомъ и структура ядра, бѣднаго хроматиномъ и снабженнаго обыкновенно ядрышками, а также и соединеніе клѣтокъ между собой при помощи отростковъ.

Наконецъ, третье предположеніе, что отростчатые клѣтки являются фибробластами, нельзя также считать вполне приемлемымъ. Такое допущеніе, что изъ кровяныхъ элементовъ въ теченіе нѣсколькихъ дней способны развиться фибробласты, противорѣчитъ установившимся въ наукѣ взглядамъ. Правда, *Максимо-вымъ*²²⁾ подробно изученъ процессъ превращенія полибластовъ въ фибробласты въ старыхъ воспалительныхъ очагахъ. Но это превращеніе протекаетъ, по его наблюденіямъ, очень медленно, а, вѣдь, въ нашихъ культурахъ, оно завершается въ нѣсколько дней. Съ другой стороны, допущеніе, что отростчатые клѣтки относятся къ фибробластамъ въ такихъ культурахъ, какъ сердце, легкое, почка, —представляется весьма вѣроятнымъ. Здѣсь эти элементы развиваются непосредственно изъ стромы органа въ видѣ направленныхъ въ окружающую плазму стрѣловидныхъ выступовъ. Нѣтъ достаточныхъ основаній отрицать возможность роста и размноженія тѣхъ фибробластовъ, которые имѣются въ стромѣ посаженныхъ кусочковъ ткани.

Если мы сравнимъ отростчатую клѣтку съ фибробластомъ, то найдемъ между ними много сходства. Форма и строеніе ядра, бѣднаго хроматиномъ и снабженнаго ядрышками, представляются у нихъ одинаковыми. Какъ фибробластъ, такъ и отростчатая клѣтка снабжены длинными вѣтвистыми отростками, при помощи которыхъ они анастомозируютъ другъ съ другомъ. Отсутствіе фибриллей въ отростчатыхъ клѣткахъ, какъ будто, принципиально отдѣляетъ ихъ отъ фибробластовъ, но *Foot'у*³⁴⁾ удалось наблюдать образованіе ясныхъ фибриллей, достигавшихъ въ длину до 80—120 микронъ, въ его х-клѣткахъ изъ культуръ костнаго мозга курицы *in vitro*. Поэтому представляется весьма вѣроятнымъ, что, по крайней мѣрѣ, часть, а можетъ быть и большинство отростчатыхъ клѣтокъ относятся къ фибробластамъ. Въ такомъ случаѣ слѣдуетъ думать, что не всѣ отростчатые

клетки одного происхожденія: часть ихъ близко стоитъ къ плазматочитамъ *Ranvier* и къ фиксированнымъ полибластамъ, другая же часть относится къ фибробластамъ. При допущеніи такого различія природы отростчатыхъ клетокъ слѣдовало бы ожидать, что между ними можно выдѣлить на основаніи морфологическихъ признаковъ нѣсколько отдѣльныхъ типовъ. Между тѣмъ намъ не удалось пока этого сдѣлать. Возможно, что при дальнѣйшемъ изученіи этого вопроса и удастся выполнить указанную задачу.

Во всякомъ случаѣ мы видимъ, что отростчатая клетка по своей структурѣ не соответствуетъ вполнѣ ни одному изъ извѣстныхъ видовъ соединительно-тканыхъ элементовъ. Поэтому возможно также сдѣлать и такое допущеніе, что отростчатые клетки, несмотря на происхожденіе изъ различныхъ элементовъ соединительной ткани и даже изъ бѣлыхъ кровяныхъ тѣлецъ, имѣютъ въ общемъ одинаковое строеніе, благодаря происходящему въ культурахъ упрощенію структуры клетокъ.

Кромѣ отростчатыхъ клетокъ, въ большинствѣ культуръ встрѣчаются въ большемъ или меньшемъ количествѣ крупныя блуждающіе элементы. Въ нѣкоторыхъ культурахъ ихъ очень мало, почти нѣтъ; въ другихъ же, наоборотъ, они находятся въ очень значительномъ количествѣ. Особенно ихъ много въ культурахъ лейкоцитической крови и костного мозга, а иногда также и въ культурахъ селезенки. Наиболѣе удобно изучать ихъ въ культурахъ лейкоцитической крови. Въ своей работѣ о выращиваніи лейкоцитической крови мы описали эти элементы подъ именемъ *гипертрофированныхъ клетокъ*. (Рис. II, 4; III, 3; IV, 6; VII, 2; XII, 1). Эти клетки обыкновенно появляются въ культурахъ или одновременно съ отростчатыми или даже раньше ихъ. Онѣ легко узнаются на живыхъ культурахъ, благодаря своей крупной величинѣ, круглой или овальной формѣ и темно-зернистой протоплазмѣ. При сильномъ увеличеніи особенно хорошо видны въ протоплазмѣ гипертрофированныхъ клетокъ многочисленныя блестящія круглыя зерна. По своей величинѣ зерна эти мельче, чѣмъ зерна въ отростчатыхъ клеткахъ. Какъ и у послѣднихъ, они находятся въ постоянномъ движеніи. Въ однихъ гипертрофированныхъ клеткахъ въ живомъ состояніи не удается различить ядра, въ другихъ же оно хорошо замѣтно, въ видѣ круглаго или овальнаго свѣтлаго пятна, не содержащаго зернистости.

Форма гипертрофированныхъ клетокъ большею частію круглая, но встрѣчаются клетки овальныя или слегка вытянутыя въ длину, а также клетки, снабженныя короткими выступами.

Подъ микроскопомъ легко убѣдиться, что гипертрофированныя клѣтки обладаютъ амебовидной подвижностью. При перемѣщеніи клѣтки путемъ образованія псевдоподій наблюдается особенно быстрое переливаніе блестящихъ зернъ въ образующіеся протоплазматическіе выступы.

Располагаются гипертрофированныя клѣтки или непосредственно около посаженного кусочка, или, что бываетъ рѣже, на довольно значительномъ разстояніи отъ него. (Рис. XII). Въ послѣднемъ случаѣ онѣ образуютъ отдѣльныя группы, состоящія иногда изъ большого числа клѣтокъ. Въ такихъ изолированныхъ группахъ удобно изучать величину, форму и отношеніе гипертрофированныхъ клѣтокъ къ отростчатымъ клѣткамъ. Здѣсь на ряду съ очень крупными клѣтками можно найти болѣе мелкіе элементы. Эта разница въ величинѣ очень хорошо выступаетъ на культурахъ костного мозга и лейкемической крови. (Рис. II, 4, 5, 6.). На ряду съ круглыми элементами встрѣчаются также вытянутые слегка въ длину, снабженные короткими остrokонечными выступами, или даже такіе, которые представляютъ несомнѣнный переходъ по своей формѣ къ отростчатымъ клѣткамъ.

Родство гипертрофированныхъ клѣтокъ съ отростчатыми особенно удобно прослѣдить на культурахъ лейкемической крови и костного мозга. (Рис. II.). На такихъ культурахъ сперва появляются крупные блуждающіе элементы въ различномъ разстояніи отъ посаженного кусочка. Постепенно увеличиваясь въ размѣрѣ, эти элементы превращаются въ гипертрофированныя клѣтки, а затѣмъ, измѣняя свою форму и теряя амебовидную подвижность, превращаются въ плоскія отростчатыя клѣтки. На культурахъ другихъ органовъ, какъ сердце, легкое, почка и т. п., доказать родство гипертрофированныхъ клѣтокъ съ отростчатыми гораздо труднѣе. На посадкахъ указанныхъ органовъ встрѣчается сравнительно мало гипертрофированныхъ клѣтокъ, тогда какъ отростчатыхъ элементовъ тамъ весьма много, такъ что гипертрофированныя клѣтки теряются въ общей массѣ ихъ. Иногда впрочемъ въ культурахъ и этихъ органовъ оказывается болѣе или менѣе значительное количество блуждающихъ крупныхъ элементовъ. Тогда и здѣсь удастся найти ясныя переходныя формы между этими гипертрофированными клѣтками и отростчатыми элементами.

На фиксированныхъ и окрашенныхъ препаратахъ эти гипертрофированныя клѣтки очень легко узнаются. (Рис. II, III, IV, VII, XII). При окраскѣ по *Giemsa*, протоплазма у нихъ обыкновенно красится довольно интенсивно въ синій цвѣтъ. Она имѣетъ такое же

ячеистое строение, какъ и въ отростчатыхъ клѣткахъ, но только ячейки здѣсь мельче и ихъ очень много, такъ какъ клѣтка имѣетъ шаровидную, а не плоскую форму. Ядро большею частію располагается эксцентрично. Оно имѣетъ круглую, иногда овальную или даже бухтообразную форму. Величина ядра различна. Большею частію оно по сравненію съ величиной клѣтки не велико. Но встрѣчаются и такіе элементы, которые имѣютъ сравнительно крупныя ядра. Ядро рѣзко контурировано, что встрѣчается, какъ правило, въ культурахъ лейкемической крови. Въ культурахъ же другихъ органовъ у нѣкоторыхъ клѣтокъ этой группы ядро тоже пузырькообразно, у другихъ же никакой оболочки вокругъ ядра не замѣтно. У большинства гипертрофированныхъ клѣтокъ въ ядрѣ видны 1—3 ядрышка, а иногда также мелкія хромативныя глыбки, но въ общемъ ядро не богато хроматиномъ. Встрѣчаются и такія клѣтки, у которыхъ, кромѣ оболочки и ядрышекъ, не видно никакихъ хроматиновыхъ образований.

Фигуры каріокинетическаго дѣленія гипертрофированныхъ клѣтокъ встрѣчаются довольно часто. (Рис. IV, 7; VП, 3). Возможно, впрочемъ, что эти клѣтки, кромѣ каріокинеза, размножаются также и прямымъ дѣленіемъ. Такъ, въ культурахъ лейкемической крови, гдѣ гипертрофированныхъ клѣтокъ встрѣчается очень много, сравнительно не очень часто удается находить фигуры каріокинетическаго дѣленія ихъ. Съ другой стороны, у нѣкоторыхъ клѣтокъ имѣется или по два ядра или же ядро имѣетъ бисквитообразную форму. У тѣхъ и другихъ замѣчается иногда и дѣленіе протоплазмы на двѣ части.

При окраскѣ на жиръ суданомъ въ протоплазмѣ этихъ элементовъ видно большое количество жировыхъ капель приблизительно одинаковой величины. *Nilblausulfat* окрашиваетъ эти жировыя капельки такъ же, какъ и у отростчатыхъ клѣтокъ, въ малиновый цвѣтъ.

На фиксированныхъ и окрашенныхъ препаратахъ родство гипертрофированныхъ клѣтокъ съ отростчатыми выступаетъ еще рѣзче. (Рис. П.). У тѣхъ и другихъ строение ядра и протоплазмы въ общемъ одинаково. Что касается формы клѣтки, то здѣсь между ними встрѣчаются всевозможные переходы. Для культуръ лейкемической крови и костнаго мозга несомнѣнно происхожденіе отростчатыхъ клѣтокъ изъ вышеописанныхъ блуждающихъ гипертрофированныхъ элементовъ. Въ другихъ культурахъ часть отростчатыхъ клѣтокъ, несомнѣнно, развивается изъ такихъ же гипертрофированныхъ элементовъ, но мы не въ состояніи совершенно исключить

возможности иного источника происхождения нѣкоторой части отростчатыхъ клѣтокъ. Возможность эта представляется тѣмъ болѣе вѣроятной, что въ нѣкоторыхъ культурахъ отростчатыя клѣтки появляются съ самаго начала въ большомъ количествѣ по краямъ посаженнаго кусочка, между тѣмъ какъ гипертрофированныхъ блуждающихъ элементовъ въ это время еще почти совсѣмъ нѣтъ.

Интересно отмѣтить, что другіе авторы совершенно не выделяютъ гипертрофированныхъ клѣтокъ въ отдѣльную группу. Эти элементы описываются ими въ общей группѣ съ отростчатыми клѣтками. Это объясняется тѣмъ, что никто, кромѣ насъ, не культивировалъ лейкемической крови, гдѣ особенно рѣзко выделяются гипертрофированныя клѣтки. Въ культурахъ же другихъ тканей гипертрофированныя клѣтки оказываются въ весьма маломъ количествѣ по сравненію съ отростчатыми элементами.

Нѣкоторыя изъ гипертрофированныхъ клѣтокъ несутъ вполне опредѣленную функцію: онѣ являются *макрофагами*. (Рис. III, 4, VII, 6; X, 3; XII, 2). Такіе макрофаги большею частію содержатъ въ протоплазмѣ въ особыхъ вакуоляхъ захваченныя красныя и бѣлыя кровяныя тѣльца. Эти включенія подвергаются внутриклеточному перевариванію. Въ нѣкоторыхъ макрофагахъ такихъ включеній находится очень много; иногда въ протоплазмѣ одного макрофага можно видѣть до 5—10 захваченныхъ клѣтокъ. Другіе макрофаги содержатъ въ своей протоплазмѣ частички угля, случайно попавшія въ питательную среду при недостаточномъ прокаливаніи платиновой петли; третьи—содержатъ желтобурый пигментъ. Особенно интересны послѣднія клѣтки. Онѣ обладаютъ иногда очень крупною величиною и содержатъ въ протоплазмѣ весьма значительное количество или мелкихъ или же болѣе крупныхъ желтоватыхъ глыбокъ. Такія клѣтки хорошо различимы въ живомъ состояніи, благодаря ихъ желтому цвѣту. Особенно много ихъ встрѣчается въ культурахъ костнаго мозга. Здѣсь иногда образуются значительные фокусы, состоящіе почти исключительно изъ этихъ элементовъ. Такіе фокусы бываютъ различными на культурахъ и макроскопически въ видѣ желтоватыхъ пятенъ. Темно-бурый пигментъ образуется въ этихъ макрофагахъ изъ гемоглобина красныхъ кровяныхъ тѣлецъ. Пожирая эритроцитовъ, макрофаги превращаютъ гемоглобинъ ихъ въ вышеупомянутый пигментъ. Наконецъ, въ культурахъ сердечной мышцы встрѣчаются и такіе макрофаги, у которыхъ протоплазма почти сплошь оказывается набитой распадающимися мышечными волокнами. (Рис. X, 3).

Къ элементамъ, которые могутъ встрѣтиться также на всѣхъ культурахъ и которые близко стоятъ къ гипертрофированнымъ блуждающимъ клѣткамъ, относятся еще многоядерныя *гигантскія* клѣтки. (Рис. IV, 8). Въ наибольшемъ количествѣ встрѣчаются онѣ въ культурахъ лейкемической крови. Здѣсь онѣ достигаютъ иногда колоссальной величины. Гигантскія клѣтки имѣютъ круглую или слегка неправильную форму. Протоплазма у нихъ слабо базофильна. Строеніе ея не такъ ясно выражено, какъ у гипертрофированныхъ и отростчатыхъ клѣтокъ. Все же обыкновенно и здѣсь замѣтно мелко-ячеистое строеніе. Число ядеръ въ гигантскихъ клѣткахъ различно, отъ 2 до 10 и болѣе. Ядра имѣютъ большею частію овальную форму и снабжены 1—3 ядрышками. Располагаются ядра обыкновенно ближе къ центральной части клѣтки. Гигантскія клѣтки появляются въ культурахъ вокругъ инородныхъ тѣлъ, какъ напр., вокругъ хлопчатобумажныхъ волоконъ. Эти инородныя тѣла окружаются иногда со всѣхъ сторонъ гигантскими клѣтками. Гигантскія клѣтки происходят, несомнѣнно, изъ гипертрофированныхъ элементовъ, которые располагаются всегда въ перемежку съ ними. (Рис. IV). Здѣсь легко можно найти между одноядерной и многоядерной клѣткой цѣлый рядъ промежуточныхъ формъ. Такъ, у нѣкоторыхъ клѣтокъ имѣется по два, у другихъ по три ядра. Какимъ путемъ происходитъ образованіе гигантской клѣтки, путемъ ли сліянія нѣсколькихъ одноядерныхъ элементовъ, или же путемъ дѣленія ядра, при чемъ сама клѣтка не дѣлится, сказать съ увѣренностью мы не можемъ. Для насъ послѣдній способъ образованія кажется болѣе вѣроятнымъ, такъ какъ найти картины прямого дѣленія ядеръ въ гигантскихъ клѣткахъ легко. Но намъ ни разу не удавалось видѣть въ нихъ фигуры каріокинеза. Кромѣ культуръ лейкемической крови, гигантскія клѣтки встрѣчаются также, хотя и значительно рѣже, въ культурахъ костного мозга, селезенки, легкаго и нѣкоторыхъ другихъ органовъ. Такъ, *Lambert и Hanes* ²³⁾ наблюдали образованіе гигантскихъ клѣтокъ въ культурахъ селезенки вокругъ инородныхъ тѣлъ, вводимыхъ искусственно въ питательную среду, какъ напр., вокругъ нитей, вокругъ сѣмянъ ликоподія и т. п. По мнѣнію *Lambert'a* и *Hanes'a*, эти гигантскія клѣтки образуются путемъ сліянія блуждающихъ элементовъ, а именно—эндотелія сосудовъ и большихъ клѣтокъ селезеночной пульпы; соединительнотканныя клѣтки не принимаютъ участія въ образованіи гигантскихъ клѣтокъ, такъ какъ эти послѣднія не образуются въ чистыхъ культурахъ соединительной ткани. Кромѣ этихъ гигантскихъ клѣ-

токъ, *Lambert* и *Hanes* описываютъ другого рода элементы, встрѣчающіеся въ культурахъ костнаго мозга и селезенки. Послѣдніе—суть гигантскія клѣтки плоской формы, такъ какъ онѣ располагаются на поверхности стекла, которое и служитъ имъ въ качествѣ инороднаго тѣла. Фигуръ каріокинетическаго дѣленія въ гигантскихъ клѣткахъ *Lambert* и *Hanes* ни разу не наблюдали.

Происхожденіе, развитіе и взаимное соотношеніе только—что разобранныхъ клѣточныхъ элементовъ подробно изучалось нами на культурахъ лейкемической крови. На этихъ посадкахъ удалось прослѣдить какъ появленіе, такъ и различныя превращенія описанныхъ клѣтокъ. Общее заключеніе, къ которому мы пришли, состоитъ въ томъ, что гипертрофированныя, отростчатая и гигантскія клѣтки, а также и макрофаги въ культурахъ лейкемической крови имѣютъ одинъ источникъ происхожденія. Клѣтки эти развиваются изъ міэлобластовъ лейкемической крови, подъ именемъ которыхъ мы подразумѣваемъ не только міэлобластовъ *Naegeli*⁵⁴), но и лимфоцитовъ съ моноклеарами. Міэлобласты, при выращиваніи ихъ внѣ организма, способны подвергаться цѣлому ряду сложныхъ измѣненій и превращаться въ разнообразныя по внѣшнему виду и по функціи элементы. Повидимому, міэлобласты при этомъ могутъ дифференцироваться въ 3-хъ направленіяхъ. (Рис. VI). Во 1-хъ, они превращаются въ блуждающіе элементы крайне неправильной формы, обладающіе до извѣстной степени фагоцитарной способностью. Во 2-хъ, нѣкоторые міэлобласты превращаются въ малоподвижныя *веретенообразныя* клѣтки. Въ 3-хъ, міэлобласты, рѣзко увеличиваясь въ своихъ размѣрахъ, превращаются въ гипертрофированныя клѣтки, жизнеспособныя въ высшей степени.

Гипертрофированныя клѣтки, въ свою очередь, подвергаются троякаго рода измѣненіямъ. Во 1-хъ, онѣ могутъ превращаться въ многоядерныя гигантскія клѣтки, во 2-хъ,—въ отростчатая клѣтки и въ 3-хъ—макрофаги.

Эти троякаго рода превращенія гипертрофированной клѣтки зависятъ, повидимому, отъ внѣшнихъ условій. Такъ, гигантская клѣтка развивается тамъ, гдѣ имѣется инородное тѣло. Отростчатая клѣтка образуется изъ гипертрофированной клѣтки въ томъ случаѣ, если она располагается непосредственно на поверхности стекла, гдѣ она имѣетъ удобную точку опоры для прикрѣпленія своихъ длинныхъ, вѣтвящихся отростковъ. Наконецъ, макрофаги встрѣчаются по преимуществу тамъ, гдѣ имѣются погибающія клѣточки.

*Foot*²⁴) приходитъ почти къ такимъ же заключеніямъ, какъ и мы, объ источникѣ происхожденія и родствѣ развивающихся въ культурахъ костнаго мозга элементовъ, названныхъ имъ х-клетками.

Такимъ образомъ, гипертрофированныя клетки отличаются слѣдующими характерными особенностями. Онѣ могутъ рѣзко увеличиваться въ своемъ объемѣ, обладаютъ подвижностью и способны превращаться въ макрофаги, въ гигантскія клетки и въ строматочныя клетки. По своему происхожденію изъ одноядерныхъ элементовъ крови, по своей морфологіи и по способности къ разнообразнымъ превращеніямъ описываемыя гипертрофированныя клетки чрезвычайно сходны съ полибластами *Максимова*^{51—53}). Нѣкоторыя второстепенныя отличія касаются строенія ядра и протоплазмы. Ядро у гипертрофированныхъ клетокъ рѣзко контурировано, сравнительно бѣдно хроматиномъ и содержитъ нѣсколько ядрышекъ; у полибластовъ же ядро очерчено слабѣе, богаче хроматиномъ и отчетливыхъ ядрышекъ не содержитъ. Но, по изслѣдованіямъ *Hadda* и *Rosenthal*'я²³), ядра клетокъ при выращиваніи ихъ внѣ организма могутъ измѣнять свое строеніе въ зависимости отъ состава питательной среды. Возможно, что и въ нашихъ опытахъ указанная разница въ строеніи ядра гипертрофированныхъ клетокъ и полибластовъ зависитъ отъ тѣхъ же условій.

Собственные опыты культивированія различныхъ органовъ и тканей.

1. Опыты культивированія лейкемической крови.

Посадокъ лейкемической крови произведено было нами довольно значительное количество. Кровь бралась для этихъ опытовъ отъ трехъ больныхъ міэлогенной формой лейкеміи, при чемъ въ двухъ случаяхъ получился хорошій ростъ лейкемической крови на культурѣ, а въ одномъ случаѣ роста не было. Такая разница результатовъ зависѣла, вѣроятно же всего, отъ выраженности заболѣванія. Наилучшіе результаты получились при культивированіи крови отъ больного съ очень рѣзко выраженной формой лейкеміи. У этого больного число бѣлыхъ тѣлецъ въ 1 куб. мил. крови колебалось въ предѣлахъ отъ 1 милліона до 600.000. У другого больного число бѣлыхъ тѣлецъ равнялось въ круглыхъ цифрахъ 300.000; ростъ культуръ изъ его крови былъ нѣсколько слабѣе, чѣмъ въ первомъ случаѣ, хотя результаты получились въ общемъ одинако-

вые. Наконецъ у третьей больной съ формой лейкеміи, слабѣе выраженной, (число бѣлыхъ тѣлецъ было у нея около 100.000), никакого роста въ культурахъ не получилось. Неудача въ этомъ случаѣ, помимо небольшого сравнительно числа бѣлыхъ тѣлецъ въ крови, зависѣла, вѣроятно, также и отъ способа примѣнявшагося здѣсь лѣченія. Больная подвергалась въ теченіе долгаго времени лѣченію бензоломъ, а бензолъ дѣйствуетъ губительнымъ образомъ на бѣлыя кровяныя тѣльца. Впрочемъ, у этой больной кровь бралась для посадки всего одинъ разъ, и поэтому возможно допустить, что при повторныхъ опытахъ получился бы и положительный результатъ.

У перваго больного кровь бралась 5 разъ, и во всѣхъ случаяхъ наблюдался ростъ на культурахъ. Однако интенсивность роста была при этомъ не одинакова. При первой посадкѣ, когда число бѣлыхъ тѣлецъ въ крови равнялось 1 миллиону, получился наиболѣе хорошій результатъ. Въ слѣдующихъ опытахъ, по мѣрѣ уменьшенія числа бѣлыхъ тѣлецъ подъ вліяніемъ лѣченія лучами *Roentgen'a*, ростъ получался нѣсколько слабѣе. У втораго больного, съ количествомъ бѣлыхъ тѣлецъ въ 300.000 въ 1 к. м., кровь бралась всего одинъ разъ, и, какъ уже было упомянуто, изъ этой крови получилаcя хорошая культура.

Техническая часть опытовъ описана подробно въ соотвѣтствующемъ отдѣлѣ настоящей работы; поэтому здѣсь мы на ней останавливаться не будемъ, а перейдемъ прямо къ описанію тѣхъ явленій, которыя наблюдаются въ посадкахъ лейкемической крови, и изложимъ ихъ съ возможной краткостью.

Какъ было упомянуто, въ качествѣ посадочнаго матеріала въ этихъ опытахъ брались или кусочки свернувшейся лейкемической крови, или же взвѣсъ форменныхъ элементовъ крови въ Рингеровской жидкости. Въ первомъ случаѣ при изслѣдованіи культуры подъ микроскопомъ сейчасъ же послѣ посадки кусочекъ кровяного свертка оказывался рѣзко ограниченнымъ, и клѣточныхъ элементовъ по краямъ его въ окружающей плазмѣ или совершенно не было видно, или же ихъ было очень мало. Во второмъ случаѣ, гдѣ въ качествѣ посадочнаго матеріала употреблялась жидкость, состоящая изъ смѣси крови съ Рингеровской жидкостью, отдѣльные форменные элементы хорошо были различимы подъ микроскопомъ сейчасъ же послѣ посадки. Въ томъ и другомъ случаѣ, какъ только культуры нагрѣвались въ термостатѣ до 36—38°, бѣлыя кровяныя тѣльца начинали оживленно передвигаться съ мѣста на мѣсто. Изъ сгустка лейкемической крови они начинали выселяться въ

окружающую плазму и скоплялись вокруг кусочка въ значительномъ количествѣ.

Уже черезъ полчаса рѣзко очерченный вначалѣ край кусочка оказывался окруженнымъ узкой каймой изъ клѣтокъ, находящихся въ оживленномъ движеніи, главнымъ образомъ по направленію къ стороны отъ кусочка. При сильномъ увеличеніи, для котораго пригодны курьтуры изъ взвѣшенной крови на стеклахъ съ углубленіемъ, хорошо узнаются нейтрофилы по присутствію въ протоплазмѣ мельчайшей зернистости, а также базофилы и эозинофилы по крупнымъ блестящимъ зернамъ.

Выселеніе бѣлыхъ тѣлецъ изъ посаженного свертка въ окружающую плазму быстро увеличивается: черезъ 2—3 часа оно замѣтно уже макроскопически въ видѣ узкаго опаковаго колечка вокругъ ярко-краснаго кусочка. Черезъ день эмиграція бѣлыхъ кровяныхъ тѣлецъ въ окружающую плазму достигаетъ уже значительныхъ размѣровъ. Посаженный кусочекъ окруженъ иногда бѣлымъ кольцомъ, превосходящимъ по своимъ размѣрамъ поверхность посаженного кусочка. Въ этомъ кольцѣ клѣтки лежатъ очень густо, а въ сторонѣ отъ него встрѣчаются лишь отдѣльные блуждающіе элементы, число которыхъ уменьшается по мѣрѣ удаленія отъ кусочка.

На фиксированныхъ и окрашенныхъ по *Giemsa* препаратахъ удастся узнать природу блуждающихъ элементовъ. Общая картина на окрашенныхъ препаратахъ представляется слѣдующей. (Рис. I). Въ центрѣ препарата находится посаженный сгустокъ, состоящій главнымъ образомъ изъ красныхъ кровяныхъ тѣлецъ, частью хорошо сохранившихся, частью уже обезцвѣтившихся или распавшихся на отдѣльныя глыбы. Кромѣ эритроцитовъ, въ посаженномъ кусочкѣ видно много бѣлыхъ кровяныхъ тѣлецъ, главнымъ образомъ одноядерныхъ. Въ кровяного сгустка красныхъ кровяныхъ тѣлецъ очень мало, за то бѣлыя тѣльца окружаютъ посаженный кусочекъ въ видѣ густого кольца.

Распределеніе полинуклеарныхъ и мононуклеарныхъ клѣтокъ вблизи и вдали отъ посаженного сгустка неодинаково. Непосредственно вокругъ сгустка въ видѣ узкой каймы располагаются почти только одноядерные элементы; нѣсколько дальше отъ него въ густомъ поясѣ выселившихся клѣтокъ замѣтно уже ясное преобладаніе полинуклеаровъ. Наконецъ, еще дальше отъ посаженного кусочка, гдѣ клѣтки лежатъ уже изолированно, встрѣчаются лишь одни полинуклеары. Очевидно, полинуклеары обладаютъ большей подвижностью и потому при расселеніи по питательной средѣ ока-

зываются впереди другихъ элементовъ. Среди полинуклеаровъ легко удается выдѣлить нейтрофиловъ, эозинофиловъ и базофиловъ. Эозинофилы и базофилы въ скорости передвиженія, повидимому, нисколько не уступаютъ нейтрофиламъ, такъ какъ они не рѣдко встрѣчаются среди наиболѣе удаленныхъ отъ посаженного кусочка клѣтокъ.

Среди одноядерныхъ элементовъ при окраскѣ по *Giemsa* удается выдѣлить нейтрофильныхъ и эозинофильныхъ міелоцитовъ. Міелоциты также выселяются изъ посаженного кусочка часто на большія разстоянія. У нѣкоторыхъ изъ міелоцитовъ ядро оказывается рѣзко измѣненнымъ: оно небольшой величины, круглой формы, неясной структуры и сильно воспринимаетъ ядерныя краски. Вѣроятно, эти міелоциты съ пикнотическимъ ядромъ находятся на пути къ гибели.

Кромѣ этихъ элементовъ, черезъ 24 часа послѣ посадки удастся выдѣлить еще слѣдующія группы клѣтокъ. Одноядерные элементы съ большимъ пузырькообразнымъ ядромъ, бѣднымъ хроматиномъ, и съ малымъ количествомъ протоплазмы. (Рис. II, 3; IV, 5; VI, 2). Въ ядрѣ часто замѣтны 1—3 ядрышка. Повидимому, эти элементы слѣдуетъ отнести къ міелобластамъ *Naegeli*⁵⁴). За это говоритъ базофилия и малое количество протоплазмы, величина и форма ядра, присутствіе въ ядрѣ ядрышекъ. Правда, эти клѣтки нѣсколько отличаются отъ тѣхъ типичныхъ міелобластовъ, которыхъ мы привыкли видѣть на окрашенныхъ сухихъ препаратахъ крови. Отличіе состоитъ въ томъ, что у данныхъ клѣтокъ ядро пузырькообразное съ рѣзкими контурами, а у міелобластовъ ядро не контурировано; ядрышки въ этихъ клѣткахъ густо окрашиваются, а у міелобластовъ слабо. Но эта разница, вѣроятно, зависитъ отъ способа фиксаціи и отъ самаго приготовленія препаратовъ. По крайней мѣрѣ, на рисункахъ *Schridde*⁵⁵), способомъ котораго мы пользовались при фиксаціи и окраскѣ препаратовъ, міелобласты снабжены такимъ же пузырькообразнымъ ядромъ съ густоокрашивающимися ядрышками, какъ и на нашихъ препаратахъ. Поэтому мы считаемъ описываемыя клѣтки за міелобластовъ. Въ лейкоцитарной крови перваго больного, съ большимъ содержаніемъ бѣлыхъ кровяныхъ тѣлецъ, міелобластовъ было около 3%, въ крови втораго больного, съ меньшимъ содержаніемъ бѣлыхъ тѣлецъ, около 1%.

Въ посаженномъ матеріалѣ, кромѣ міелобластовъ, имѣлись и лимфоциты, а также и моноклеары съ переходными, правда, въ меньшемъ количествѣ. Этихъ элементовъ намъ не удалось точно

выдѣлить на срѣзахъ изъ нашихъ культуръ. Лимфоциты на такихъ препаратахъ отличаются отъ міэлобластовъ главнымъ образомъ своей меньшей величиной. Размѣръ же клѣтокъ очень измѣнчивъ и не можетъ служить достаточнымъ основаніемъ для классификаціи. Къ тому же, по изслѣдованіямъ А. Максимова, лимфоциты способны быстро измѣнять свою величину при выселеніи изъ сосудовъ въ ткани. Поэтому лимфоциты съ моноклеарами попали у насъ въ одну общую группу съ міэлобластами. Эти элементы на культурахъ способны къ самымъ разнообразнымъ превращеніямъ.

Кромѣ только что описанныхъ міэлобластовъ, имѣющихъ круглую форму, встрѣчаются уже на однодневныхъ культурахъ блуждающія клѣтки съ такимъ же, какъ у міэлобластовъ, пузырькообразнымъ ядромъ, но у которыхъ протоплазма имѣетъ неправильные контуры. (Рис. IV, 3; VI, 6). Она вытянута въ длину и образуетъ многочисленные довольно грубые выступы. Элементы эти подвижны и обладаютъ фагоцитарной способностью. Въ протоплазмѣ ихъ внутри вакуолей не рѣдко оказываются красныя и бѣлыя кровяныя тѣльца въ состояніи внутриклеточнаго перевариванія. По своему виду клѣтки эти имѣютъ сходство съ полибластами Максимова.

Наконецъ, уже въ этотъ ранній періодъ развитія культуры появляются особые элементы, совершенно не встрѣчающіеся въ крови. Это—клѣтки вытянутой формы, съ заостренными концами, безъ всякихъ боковыхъ выступовъ. Ядро у нихъ овальное, пузырькообразное, съ нѣсколькими ядрышками, лежитъ по срединѣ клѣтки. Въ протоплазмѣ замѣтно хорошо ячеистое строеніе. По своему виду эти элементы довольно близко стоятъ къ описаннымъ выше отростчатымъ клѣткамъ, но отличаются отъ нихъ своей незначительной величиной и однообразной удлинненной формой. Мы уже назвали ихъ *веретенообразными клѣтками*. (Рис. VI, 5).

Процессы размноженія клѣтокъ въ посадкахъ лейкемической крови появляются уже черезъ 24 часа. Въ это время довольно легко найти фигуры типичнаго каріомитоза среди одноядерныхъ элементовъ. (Рис. I, 6, 7, 8). Размножаются главнымъ образомъ міэлоциты, какъ нейтрофильные, такъ и эозинофильные, хотя послѣдніе значительно рѣже. Размноженіе клѣтокъ происходитъ по преимуществу въ томъ густомъ узкомъ поясѣ изъ одноядерныхъ элементовъ, которымъ непосредственно окружается посаженный кусочекъ кровяного свертка. Рѣже фигуры дѣленія можно найти въ самомъ сгусткѣ или вдали отъ него, гдѣ выселившіеся клѣтки лежатъ по

одинокѣ. Общая картина однодневной культуры лейкемической крови изображена на рисункѣ I, срисованномъ съ окрашеннаго препарата, при помощи рисовальнаго прибора.

На двухдневныхъ культурахъ лейкемической крови эмиграція бѣлыхъ кровяныхъ тѣлецъ изъ посаженнаго сгустка въ окружающую плазму достигаетъ еще болѣе значительныхъ размѣровъ, чѣмъ наканунѣ. Ширина кольца, окружающаго посаженный кусочекъ, достигаетъ иногда до $\frac{1}{2}$ сантиметра. Въ живомъ состояніи подъ микроскопомъ въ общемъ наблюдается та же самая картина, что и раньше. Главная масса выселившихся клѣтокъ лежитъ въ густомъ поясѣ около кусочка, но отдѣльные элементы къ этому времени разсѣялись уже по всей плазмѣ. Мѣстами они образовали небольшія изолированныя кучки на подобіе микроскопическихъ гнойничковъ. Уже въ 2-дневныхъ культурахъ нѣкоторые мелкіе кусочки кровяного свертка начинаютъ обезцвѣчиваться, а окружающая плазма окрашивается въ красноватый цвѣтъ. Это зависитъ отъ гемолитическаго дѣйствія инородной плазмы на эритроциты крови человѣка.

Среди выселившихся клѣтокъ начинаютъ выдѣляться нѣкоторые элементы, благодаря своимъ крупнымъ размѣрамъ, болѣею частью круглой формѣ и темно-зернистой протоплазмѣ. Это—большіе блуждающіе элементы, описанные нами здѣсь подѣ названіемъ *гипертрофированныхъ* клѣтокъ. (Рис. II, 4).

На фиксированныхъ и окрашенныхъ препаратахъ 2-дневныхъ культуръ лейкемической крови мы находимъ почти ту же самую картину, что и наканунѣ. Правда, размноженіе клѣтокъ здѣсь происходитъ значительно энергичнѣе, но за то нѣкоторые элементы уже начинаютъ погибать, подвергаясь мелко-зернистому распаду. Между блуждающими гипертрофированными клѣтками и одноядерными элементами, отнесенными нами въ группу міэлобластовъ, можно легко найти всевозможныя переходныя формы. (Рис. II). Поэтому представляется весьма вѣроятнымъ происхожденіе гипертрофированныхъ клѣтокъ изъ міэлобластовъ. При такомъ прогрессивномъ измѣненіи міэлобласта, ядро его остается безъ рѣзкихъ перемѣнъ, но за то количество протоплазмы постепенно увеличивается. Она принимаетъ ячеистое строеніе и накапливаетъ большія количества жира. При такой гипертрофіи протоплазмы ядро отгѣсняется къ периферіи, и клѣтка принимаетъ видъ, характерный для вышеописанныхъ гипертрофированныхъ клѣтокъ. Нѣкоторые изъ этихъ клѣтокъ съ гипертрофированной протоплазмой размножаются при помощи каріокинеза. (Рис. IV, 7).

Въ 3-дневныхъ культурахъ лейкемической крови жизнь и размноженіе посаженныхъ элементовъ протекаетъ наиболѣе энергично. Эмиграція къ этому времени достигаетъ наибольшихъ размѣровъ. Гипертрофированныя клѣтки оказываются въ гораздо большемъ числѣ, чѣмъ наканунѣ. Въ нѣкоторыхъ культурахъ онѣ располагаются довольно густо вокругъ кусочка, въ другихъ же культурахъ къ этому времени онѣ только начинаютъ появляться; наконецъ, въ третьихъ культурахъ онѣ появляются еще позднѣе, на 4—5 день. Иногда гипертрофированныя клѣтки располагаются внутри мелкихъ кусочковъ, которые къ этому времени совсѣмъ обезцвѣчиваются, благодаря гемолизу. Среди обычныхъ круглой формы гипертрофированныхъ клѣтокъ изрѣдка встрѣчаются уже и въ это время слегка вытянутыя въ длину. Размноженіе клѣтокъ въ 3-дневныхъ культурахъ достигаетъ наибольшей интенсивности. Въ нѣкоторыхъ препаратахъ въ любомъ полѣ зрѣнія съ иммерсіей можно найти 4—5 типичныхъ фигуръ каріомитоза.

Начиная съ 4-го дня жизни культуръ, гибель многихъ клѣтекъ выступаетъ особенно рѣзко. Уже при изслѣдованіи культуры въ живомъ состояніи видны погибшія клѣтки, превратившіяся въ мелкозернистую массу. Многіе посаженные кусочки къ этому времени совершенно обезцвѣчиваются. Что касается гипертрофированныхъ клѣтокъ, то число ихъ къ этому времени еще болѣе увеличивается. Нѣкоторыя изъ нихъ лежатъ довольно далеко отъ посаженного кусочка, или изолированно, или въ видѣ небольшихъ группъ, но главная масса ихъ находится или въ самомъ кровяномъ сгусткѣ или непосредственно вокругъ него. Теперь еще рѣзче эти клѣтки бросаются въ глаза своей величиной, растущей изо дня въ день. Большинство изъ нихъ имѣетъ круглую форму, но встрѣчаются клѣтки полигональныя, грушевидныя, вытянутыя, веретенообразныя и наконецъ плоскія, снабженныя многочисленными остроконечными отростками. Появленіе этихъ плоскихъ, снабженныхъ короткими отростками клѣтокъ указываетъ на постепенное превращеніе гипертрофированныхъ клѣтокъ въ *отростчатыя*. (Рис. II, 4, 5, 6).

Отростчатыхъ клѣтокъ въ 4-дневныхъ культурахъ встрѣчается еще очень мало. Всѣ онѣ имѣютъ ясно выраженное ячеистое строеніе протоплазмы и пузырькообразное, бѣдное хроматиномъ ядро, снабженное нѣсколькими ядрышками. Интересно, что онѣ располагаются главнымъ образомъ непосредственно на поверхности стекла. Здѣсь онѣ, очевидно, находятъ хорошую точку опоры для образованія своихъ длинныхъ развѣтвляющихся отростковъ. Отростча-

тыя клѣтки теряютъ въ значительной степени амебовидную подвижность, присущую гипертрофированнымъ клѣткамъ, и остаются часто фиксированными въ извѣстномъ положеніи на неопредѣленно долгое время.

Нѣкоторыя изъ гипертрофированныхъ клѣтокъ исполняютъ по преимуществу фагоцитарную функцію: онѣ поглощаютъ красныя и бѣлыя кровяныя тѣльца, частички угля, случайно попавшія въ питательную среду при приготовленіи культуры; наконецъ, нѣкоторыя изъ нихъ сплошь заполнены пигментомъ въ видѣ желтовато-бурыхъ зеренъ и глыбокъ различной величины. Итакъ, по своей функціи эти элементы являются *макрофагами*. (Рис. III, 4). Нерѣдко въ одномъ макрофагѣ встрѣчается до 10 и болѣе разрушающихся клѣтокъ, такъ что вся протоплазма его оказывается заполненной этими включеніями.

Въ 5-дневныхъ культурахъ лейкемической крови гибель посаженныхъ элементовъ выступаетъ особенно рѣзко. Большинство красныхъ кровяныхъ тѣлецъ къ этому времени совершенно обезцвѣчиваются и распадаются. Большинство полиморфноядерныхъ нейтрофиловъ тоже подвергаются гибели и разрушенію. Фигуры дѣленія міелоцитовъ, хотя и встрѣчаются въ 5-дневныхъ культурахъ, но значительно рѣже, чѣмъ раньше. Что касается гипертрофированныхъ и отростчатыхъ элементовъ, то въ 5-дневныхъ культурахъ ихъ гораздо больше, чѣмъ въ 4-дневныхъ. Здѣсь они часто преобладаютъ своимъ количествомъ надъ прочими элементами. Отростчатыя клѣтки еще болѣе вытягиваются въ длину и получаютъ самыя разнообразныя очертанія.

Среди гипертрофированныхъ клѣтокъ, расположенныхъ во кругѣ инородныхъ тѣлъ въ 5-дневныхъ культурахъ можно изрѣдка найти настоящія многоядерныя *гигантскія клѣтки*. (Рис. IV, 8). Эти клѣтки иногда достигаютъ очень значительной величины и содержатъ до 10 и болѣе ядеръ. Лежатъ онѣ почти всегда непосредственно вокругъ инородныхъ тѣлъ, обыкновенно вокругъ хлопчатобумажныхъ волоконцевъ. Послѣднія иногда бываютъ окружены со всѣхъ сторонъ гигантской клѣткой. Между гипертрофированными и гигантскими клѣтками встрѣчаются, какъ объ этомъ было упомянуто, всевозможныя переходныя формы.

На 6—8 день послѣ посадки большая часть бѣлыхъ кровяныхъ тѣлецъ погибаетъ. Однако, фигуры дѣленія отдѣльныхъ клѣтокъ изрѣдка встрѣчаются до 11—12 дня. Особенно долго сохраняютъ свою жизнеспособность эозинофилы, встрѣчающіеся въ старыхъ культурахъ иногда въ большомъ количествѣ. Гипертрофирован

ныя клѣтки въ 6—12 дневныхъ культурахъ продолжаютъ расти и развиваться. Количество ихъ постепенно все увеличивается. Если онѣ находятся въ глубинѣ питательной среды, вдали отъ стекла, то форма ихъ не особенно значительно отклоняется отъ круглой и лишь немногія изъ нихъ и при томъ не на всѣхъ культурахъ превращаются въ плоскія клѣтки съ отростками. Если же гипертрофированныя клѣтки лежатъ на поверхности стекла, то большая часть ихъ приобретаетъ вытянутую форму и образуетъ многочисленные, длинные протоплазматическіе выступы, какъ бы стелющіеся по стеклу. При этомъ на поверхности стекла образуется подобіе сплошной крупно-петливой ткани, состоящей изъ отростчатыхъ клѣтокъ, которыя длинными вѣтвистыми отростками соединяются между собой и переплетаются въ различныхъ направленияхъ. (Рис. V).

На старыхъ 15—20 дневныхъ культурахъ и гипертрофированныя клѣтки вмѣстѣ съ отростчатыми оказываются большею частью погибшими.

Судьба различныхъ посаженныхъ элементовъ.

Красныя кровяныя тѣльца подвергаются въ разводкахъ постепенному разрушенію отчасти внѣклѣточно путемъ гемолиза, сморщиванія, распада,—отчасти внутриклѣточно путемъ поглощенія макрофагами.

Бѣлыя тѣльца. Полиморфноядерныя формы ихъ, какъ зрѣлые элементы, не способные къ дальнѣйшему развитію, какихъ-либо прогрессивныхъ измѣненій на разводкахъ не обнаруживаютъ. Онѣ сохраняютъ жизнеспособность въ теченіе нѣсколькихъ дней, оживленно двигаются, выселяются изъ посаженного кровяного свертка и расселяются по всей питательной средѣ. Уже черезъ нѣсколько дней многія изъ нихъ погибаютъ, превращаясь въ зернистый распадъ. Другія захватываются макрофагами и подвергаются внутриклѣточному перевариванію. Такимъ образомъ, эти клѣтки, не обладающія большою жизнеспособностью, въ 8—10 дневныхъ культурахъ большею частью оказываются уже погибшими.

Міелоциты нейтрофильные и эозинофильные, какъ болѣе молодые элементы по сравненію съ полиморфноядерными формами, способны къ болѣе продолжительному сохраненію жизни на разводкахъ. Какъ и полиморфноядерныя формы, они эмигрируютъ изъ посаженного кусочка, хотя и нѣсколько медленнѣе. Поэтому главная масса выселившихся міелоцитовъ лежитъ непосредственно во-

кругъ кровяного свертка. Міэлоциты какъ нейтрофильные, такъ и эозинофильные оживленно дѣлятся каріокинезомъ и даютъ молодой приплодъ. Какихъ-либо стойкихъ формъ они не образуютъ. Конечная судьба ихъ та же, что и полинуклеаровъ: они погибаютъ, или подвергаясь мелкозернистому распаду, или же будучи захвачены макрофагами. Гибель міэлоцитовъ, такъ энергично размножающихся въ первые дни на разводкахъ, зависитъ, весьма вѣроятно, отъ неблагоприятныхъ внѣшнихъ условій, главнымъ образомъ, — отъ истощенія питательной среды и отъ накопленія въ ней различныхъ вредныхъ продуктовъ обмена веществъ.

Клѣтки, отнесенныя нами въ группу *міэлобластовъ*, подвергаются на разводкахъ болѣе сложнымъ превращеніямъ, чѣмъ прочіе посаженные элементы. Повидимому, міэлобласты въ условіяхъ нашего опыта дифференцируются въ 3-хъ направленіяхъ. 1) Они превращаются безъ замѣтной гипертрофіи въ блуждающіе элементы неправильной формы, близко стоящіе къ полибластамъ *Максимова*. 2) Нѣкоторые міэлобласты очень рано превращаются въ веретенообразныя клѣтки. 3) Наконецъ, міэлобласты, рѣзко увеличиваясь въ размѣрѣ, превращаются въ гипертрофированныя клѣтки, которыя, въ свою очередь, при дальнѣйшемъ развитіи могутъ превращаться или въ гигантскія клѣтки, или въ отростчатыя клѣтки, или въ макрофаги. Эти различныя превращенія міэлобластовъ для наглядности изображены нами на прилагаемой схемѣ. (Рис. VI). О взаимномъ соотношеніи описанныхъ клѣтокъ подробно было сказано выше.

2. Опыты культивированія костного мозга.

Элементы костного мозга даютъ при культивированіи очень хорошій ростъ. Въ своихъ опытахъ мы пользовались костнымъ мозгомъ главнымъ образомъ собакъ. Мозгъ получался путемъ выдавливанія при помощи пресса изъ резецированного куска ребра. Вытекающая при такомъ выдавливаніи масса переносилась въ жидкость *Ringer'a*. Посадочнымъ матеріаломъ служили или маленькіе комочки, плававшіе въ Рингеровской жидкости, или же элементы мозга, взвѣшенные въ ней въ свободномъ состояніи. Костный мозгъ садился какъ на однородной, такъ и на инородной плазмѣ. Какой-либо рѣзкой разницы въ ростѣ при этомъ не наблюдалось.

Въ виду того, что костный мозгъ по своему составу близко стоитъ къ лейкомической крови, уже *a priori* можно ожидать въ общемъ одинаковой картины роста въ культурахъ въ томъ и другомъ

случаѣ. И дѣйствительно, существенной разницы при культивированіи лейкемической крови и костнаго мозга не наблюдается. Въ виду того, что нами подробно описаны явленія, наблюдаемыя въ культурахъ лейкемической крови, мы будемъ здѣсь кратки.

Эмиграція бѣлыхъ кровяныхъ тѣлецъ изъ посаженного комочка костнаго мозга въ окружающую плазму проявляется еще рѣзче, чѣмъ въ культурахъ лейкемической крови. Обыкновенно очень быстро, черезъ 10—20 часовъ вокругъ посаженного кусочка образуются большія скопленія блуждающихъ клѣтокъ. Вдали отъ посаженного кусочка выселившіеся бѣлыя кровяныя тѣльца собираются иногда въ кучки вокругъ инородныхъ тѣлъ,—случайныхъ колоній бактерій и т. п. Такія изолированныя кучки состоятъ почти исключительно изъ полиморфноядерныхъ нейтрофиловъ. Уже на 2—3 день жизни культуры въ такихъ скопленіяхъ лейкоцитовъ наблюдается усиленная гибель и распадъ ихъ.

Фигуры дѣленія бѣлыхъ кровяныхъ тѣлецъ, главнымъ образомъ міелоцитовъ, появляются довольно рано,—въ 1—2 дневныхъ культурахъ. Что касается эритробластовъ, то намъ не удалось наблюдать размноженія ихъ въ посадкахъ костнаго мозга. Обыкновенно они очень быстро подвергаются гибели и распаду.

Наиболѣе пышнаго развитія достигаютъ въ культурахъ костнаго мозга отростчатыя клѣтки. (Рис. VII). Эти элементы образуются и здѣсь изъ гипертрофированныхъ клѣтокъ, хотя, можетъ быть, и не во всѣхъ случаяхъ. Обыкновенно уже на 1—2 дневныхъ культурахъ можно замѣтить появленіе отростчатыхъ клѣтокъ. Эти элементы иногда появляются по периферіи посаженного кусочка, какъ бы вырастая изъ него по направленію въ окружающую плазму. Въ этихъ случаяхъ не удается прослѣдить образованія ихъ изъ гипертрофированныхъ клѣтокъ. Въ другихъ культурахъ гипертрофированныя клѣтки иногда въ значительномъ количествѣ появляются раньше отростчатыхъ, но и въ этихъ посадкахъ онѣ крайне быстро превращаются въ отростчатыя клѣтки.

Въ раннемъ и обильномъ появленіи отростчатыхъ клѣтокъ и заключается главная разница между культурами костнаго мозга и лейкемической крови. Отростчатыя клѣтки въ культурахъ костнаго мозга располагаются не только на поверхности стекла, какъ это наблюдается большею частію въ посадкахъ лейкемической крови, но и въ глубинѣ плазматической среды.

Другое отличіе заключается въ томъ, что отростчатыя клѣтки въ культурахъ костнаго мозга очень энергично размножаются каріокинетическимъ дѣленіемъ, чего мы не видѣли въ культурахъ

лейкемической крови. (Рис. VII, 5). Въ нѣкоторыхъ посадкахъ встрѣчается прямо поразительное количество фигуръ каріомитоза, какъ отростчатыхъ клѣтокъ, такъ и гипертрофированныхъ. При такомъ энергичномъ размноженіи этихъ элементовъ понятно, что они, быстро увеличиваясь въ числѣ, скоро образуютъ крайне густую ткань, занимающую иногда очень значительное пространство. Въ 4—5 дневныхъ культурахъ костнаго мозга эта новообразованная густая ткань прорастаетъ самый посаженный кусочекъ и располагается вокругъ него широкимъ кольцомъ, иногда достигающимъ до $\frac{1}{2}$ сантиметра. Кромѣ одного главнаго фокуса роста, въ культурахъ костнаго мозга обыкновенно удается найти нѣсколько мелкихъ очаговъ, состоящихъ изъ размножающихся отростчатыхъ и гипертрофированныхъ клѣтокъ.

Рѣшить вопросъ о происхожденіи гипертрофированныхъ и отростчатыхъ клѣтокъ въ культурахъ костнаго мозга труднѣе, чѣмъ въ культурахъ лейкемической крови. На мазкахъ, приготовленныхъ изъ костнаго мозга ребра собаки, мы находимъ почти исключительно кровяные элементы, которые, такимъ образомъ, и служить посадочнымъ матеріаломъ по преимуществу. Поэтому въ культурахъ костнаго мозга такъ же, какъ въ культурахъ лейкемической крови, гипертрофированныя и отростчатыя клѣтки образуются, всего вѣроятнѣе, изъ міэлобластовъ и лимфоцитовъ. Но кромѣ кровяныхъ элементовъ, въ костномъ мозгу, выдавленномъ изъ ребра, встрѣчаются, хотя и въ очень маломъ количествѣ, соединительнотканные элементы. Весьма вѣроятно, что эти элементы принимаютъ также дѣятельное участіе въ процессахъ размноженія и образованія новой ткани изъ отростчатыхъ клѣтокъ.

Что касается остальныхъ посаженныхъ элементовъ, то въ 4—5 дневныхъ культурахъ они могутъ совершенно исчезнуть. Въ другихъ случаяхъ ихъ оказывается значительно меньше, чѣмъ отростчатыхъ и гипертрофированныхъ клѣтокъ. Жизнь послѣднихъ продолжается въ культурахъ обыкновенно 10—15 дней, послѣ чего онѣ подвергаются гибели и распадаются въ зернистую массу.

Кромѣ такого обильнаго размноженія отростчатыхъ клѣтокъ, въ нѣкоторыхъ посадкахъ костнаго мозга наблюдаются нѣсколько иныя картины. Такъ, иногда вмѣсто отростчатыхъ клѣтокъ особенно много появляется макрофаговъ, при чемъ макрофаги часто содержатъ въ своей протоплазмѣ свѣтло-желтыя зерна и глыбки въ очень большомъ количествѣ. Если такіе макрофаги съ пигментомъ лежатъ группами, то эти мѣста на культурахъ можно отличить и макроскопически въ видѣ желтоватыхъ пятенъ.

Иногда удается найти въ культурахъ костнаго мозга гигантскія клѣтки. Мы имѣли возможность убѣдиться при выращиваніи костнаго мозга въ значительной амебовидной подвижности этихъ элементовъ. Иногда въ питательной средѣ по близости къ посаженнымъ кусочкамъ костнаго мозга образуются полости вслѣдствіе разжиженія фибрина. Эти полости содержатъ жидкость, а на дни ихъ, на стеклѣ располагаются въ значительномъ количествѣ гипертрофированныя клѣтки и макрофаги. Отростчатыхъ клѣтокъ въ такихъ полостяхъ обыкновенно бываетъ очень мало.

3. Опыты культивированія селезенки, вилочковой железы и лимфатической железы.

Селезенка, вилочковая железа и лимфатическія железы относятся къ такимъ органамъ, которые даютъ весьма хорошій ростъ на посадкахъ. Начало роста наблюдается обыкновенно черезъ 1—2 дня. Эмиграція лейкоцитовъ изъ посаженныхъ кусочковъ начинается еще раньше, именно—черезъ нѣсколько часовъ послѣ посадки. Въ культурахъ этихъ органовъ главная масса растущихъ клѣтокъ состоитъ изъ веретенообразныхъ и отростчатыхъ элементовъ. Эти элементы появляются по краямъ кусочковъ въ видѣ стрѣловидныхъ выступовъ. Энергично размножаясь, они окружаютъ посаженные кусочки густой новообразованной тканью. Кромѣ отростчатыхъ клѣтокъ, среди элементовъ новообразованной ткани, попадаютъ также и гипертрофированныя клѣтки, хотя обыкновенно въ незначительномъ количествѣ.

Кромѣ этой обычной картины роста, наблюдается иногда нѣсколько иная. Такъ, иногда вокругъ посаженныхъ кусочковъ появляются въ значительномъ количествѣ гипертрофированныя клѣтки, которыя затѣмъ превращаются въ отростчатыя. Нѣкоторые гипертрофированныя клѣтки берутъ на себя функцію макрофаговъ. Изрѣдка встрѣчаются и гигантскія клѣтки. На срѣзахъ видно, что центральныя части болѣе крупныхъ посаженныхъ кусочковъ довольно часто подвергаются некрозу. Отростчатыя клѣтки, такъ быстро появляющіяся въ культурахъ этихъ органовъ, происходятъ, вѣроятно, главнымъ образомъ изъ соединительно-тканыхъ клѣтокъ стромы органа. Но, по всей вѣроятности, и лимфоциты, превращаясь, какъ это мы видѣли въ костномъ мозгу и лейкемической крови, въ гипертрофированныя клѣтки, участвуютъ въ образованіи отростчатыхъ элементовъ. Но участіе ихъ не очень значительно, такъ какъ гипертрофированныя клѣтки встрѣчаются въ этихъ посадкахъ обыкновенно въ умѣренномъ количествѣ.

4. Опыты культивированія сердечной мышцы.

Кусочки сердца даютъ въ культурахъ въ общемъ хорошій ростъ, особенно если посадочный матеріалъ берется отъ молодыхъ животныхъ. Наилучшіе результаты мы получали при культивированіи кусочковъ изъ сердца щенка въ плазмѣ собаки. Но намъ ни разу не удавалось наблюдать роста и размноженія мышечныхъ волоконъ. Обыкновенно эти элементы подвергаются быстро некрозу. Отростчатая же и веретенообразная клѣтки развиваются здѣсь очень энергично, образуя вокругъ некротизированнаго кусочка сердечной мышцы густую ткань. (Рис. VIII и IX.). Въ нѣкоторыхъ культурахъ оказывалось много гипертрофированныхъ клѣтокъ. Эти элементы иногда энергично исполняютъ роль макрофаговъ, окружая густымъ кольцомъ посаженный кусочекъ. Протоплазма ихъ при этомъ оказывается сплошь набитой глыбками погибшихъ мышечныхъ волоконъ. (Рис. X). При окраскѣ по *Giemsa* эти макрофаги особенно рѣзко выдѣляются, такъ какъ находящіеся въ ихъ протоплазмѣ кусочки некротизированныхъ мышцъ окрашиваются въ другой (зеленоватый) оттѣнокъ, сравнительно съ остальной тканью.

5. Опыты культивированія яичника.

Кусочки яичника, взятые отъ щенка и культивированные на плазмѣ матери, дали вполне удовлетворительный ростъ отростчатыхъ клѣтокъ. Относительно способности специфическихъ элементовъ яичника къ росту на культурахъ ничего опредѣленнаго выяснить не удалось.

6. Опыты культивированія кусочковъ печени, почки, щитовидной, поджелудочной и слюнной железы.

Культуры всѣхъ этихъ органовъ даютъ почти исключительно развитіе веретенообразныхъ и отростчатыхъ клѣтокъ. Особенно хорошо развиваются эти элементы въ культурахъ щитовидной железы, а изрѣдка и въ культурахъ печени. Гипертрофированные клѣтки большею частію встрѣчаются въ небольшомъ количествѣ. Что касается специфическихъ элементовъ, то по отношенію къ культурамъ печени, поджелудочной и слюнной железы намъ не удавалось наблюдать какихъ-либо признаковъ размноженія эпителиальныхъ клѣтокъ этихъ органовъ. Большею частію въ 2—3 дневныхъ культурахъ центръ посаженныхъ кусочковъ подвергается полному не-

розу. По краямъ же эпителиальные клѣтки сохраняются въ хорошемъ состояніи, хотя и не обнаруживаютъ признаковъ размноженія.

Въ культурахъ щитовидной железы эпителий иногда хорошо сохраняется и въ центральныхъ частяхъ посаженного кусочка. Но фигуру дѣленія его намъ не удавалось находить.

Въ почкѣ по краямъ посаженного кусочка иногда наблюдается образованіе небольшихъ выступовъ, состоящихъ изъ почечнаго эпителия. Изрѣдка среди этого эпителия встрѣчаются фигуры дѣленія. Повидимому, почечный эпителий болѣе способенъ къ жизни и размноженію, чѣмъ эпителий вышеперечисленныхъ органовъ.

7. Опыты культивированія слизистой оболочки мочевого пузыря.

Посадки слизистой оболочки мочевого пузыря представляютъ для насъ особенный интересъ, потому что въ этихъ посадкахъ наблюдается отчетливый ростъ эпителиальныхъ клѣтокъ. Посадочный матеріалъ для этихъ культуръ добывался слѣдующимъ образомъ. Мочевой пузырь собаки или щенка вскрывался разрѣзомъ изъ брюшной полости. Моча вытекала черезъ разрѣзъ, а затѣмъ слизистая оболочка пузыря черезъ образовавшееся отверстіе выворачивалась наружу. Тонкими ножницами срѣзались поверхностные слои слизистой оболочки, которые и служили посадочнымъ матеріаломъ. вмѣстѣ съ эпителиемъ въ посадочномъ матеріалѣ имѣлось и небольшое количество соединительной ткани.

Картина роста въ посадкахъ мочевого пузыря получается нѣсколько иная, чѣмъ въ посадкахъ другихъ органовъ. Первые признаки роста обнаруживаются обыкновенно въ 1—2 дневныхъ культурахъ. Растетъ главнымъ образомъ эпителий. (Рис. XI). Тамъ, гдѣ происходитъ размноженіе эпителия, питательная плазма обыкновенно подвергается разжиженію. Образуется, такимъ образомъ, полость, содержащая въ себѣ жидкость, а по краямъ этой полости располагаются въ нѣсколько рядовъ размножающіяся эпителиальные клѣтки. Располагаются онѣ очень тѣсно одна къ другой безъ всякаго межучючнаго вещества. Форма эпителиальныхъ клѣтокъ большею частію полигональная безъ всякихъ отростковъ. Круглое или овальное большое ядро лежитъ въ срединѣ клѣтки. Въ немъ хорошо замѣтны 1—2 ядрышка. Въ нѣкоторыхъ культурахъ эпителий растетъ по краямъ полости толстымъ слоемъ, состоящимъ изъ 10 и болѣе рядовъ. Въ другихъ же культурахъ число рядовъ эпителия равняется двумъ—тремъ. Фигуры дѣленія эпителиальныхъ клѣтокъ въ культурахъ слизистой мочевого пузыря встрѣчаются довольно часто. (Рис. XI).

Что касается соединительной ткани, то въ нѣкоторыхъ культурахъ она развивается довольно пышно или на днѣ полостей, окруженныхъ слоями эпителія, или же съ той стороны кусочка, которая при посадкѣ не была покрыта эпителиемъ. Соединительнотканые элементы состоятъ изъ веретенообразныхъ, отростчатыхъ и гипертрофированныхъ клѣтокъ.

8. Опыты культивированія кусочковъ легкаго.

Въ культурахъ легкаго наблюдается обыкновенно довольно хорошій ростъ. Развиваются главнымъ образомъ веретенообразныя и отростчатыя клѣтки, образуя вокругъ посаженнаго кусочка густую ткань. Часто встрѣчаются также и гипертрофированныя клѣтки, иногда въ значительномъ количествѣ. (Рис. XII). Изрѣдка были нами находимы гигантскія многоядерныя клѣтки.

Что касается специфическихъ элементовъ, то въ посаженныхъ кусочкахъ легкаго мы наблюдали несомнѣнное размноженіе путемъ каріокинеза альвеолярнаго эпителія. Многія альвеолы оказывались заполненными эпителиальными клѣтками, среди которыхъ попадались фигуры дѣленія.

9. Опыты культивированія хряща.

Нѣсколько разъ мы садили кусочки гіалиноваго хряща, но обыкновенно получали слабый ростъ. Неудача зависѣла отъ того, что для посадки мы брали не совсѣмъ подходящий матеріалъ, а именно гіалиновый хрящъ отъ взрослого животнаго. Когда же мы посадили кусочекъ изъ островка окостенѣнія эпифиза бедра отъ щенка, то получили удовлетворительный ростъ хрящевыхъ элементовъ. (Рис. XIII). Послѣдніе развивались довольно медленно, такъ что только на 5—7 дневныхъ посадкахъ новообразованныя хрящевыя клѣтки окружали довольно широкимъ поясомъ посаженный кусочекъ. На фиксированныхъ и окрашенныхъ срѣзахъ изъ 5—7 дневной культуры хряща получалась въ общемъ слѣдующая картина. Въ центрѣ располагался небольшой кусочекъ губчатой костной ткани. (Рис. XIII, 1.). Костныя тѣльца въ костныхъ перекладинахъ не различимы. Въ костно-мозговыхъ полостяхъ лежатъ вытянутыя въ длину веретенообразныя и отростчатыя клѣтки. (Рис. XIII, 5). Кусочекъ кости окруженъ со всѣхъ сторонъ хрящевыми элементами. Тѣ изъ нихъ, которые лежатъ у самаго кусочка, расположены очень густо. Чѣмъ дальше отъ кусочка, тѣмъ клѣтокъ меньше.

Хрящевыя клѣтки довольно крупны, овальной формы. Ядро у большинства элементовъ небольшое, сморщенное, неправильной формы, сильно красится ядерными красками. Довольно часто попадаются фигуры каріокинеза. (Рис. XIII, 4). Въ нѣкоторыхъ клѣткахъ имѣется по нѣсколько ядеръ. Хрящевыя клѣтки обыкновенно располагаются группами, по 3—5 вмѣстѣ. Отъ периферіи кусочка такія группы выдаются свободно въ питательную среду. Между хрящевыми элементами встрѣчаются въ небольшомъ количествѣ обыкновенныя отростчатыя клѣтки.

10. Опыты культивированія кожи зародыша.

Крайне интересно было посадить кусочекъ кожи животного, такъ какъ эпителиальныя клѣтки глубокихъ слоевъ эпидермиса и при нормальныхъ условіяхъ довольно энергично размножаются. Но совершенно освободить поверхность кожи отъ бактерій представляется дѣломъ невозможнымъ. Поэтому для опыта мы воспользовались кожей, взятой отъ зародыша кролика. Зародышъ вынимался непосредственно изъ полости матки, съ возможнымъ соблюденіемъ требованій асептики. Для посадки срѣзались ножницами тонкія пластинки покровнаго эпителия съ поверхностей, лишенныхъ по возможности волосяного покрова,—именно, съ поверхности ступней, носа, губъ и языка. Питательной средой служила плазма, добытая отъ взрослого кролика.

Въ большинствѣ культуръ получился удовлетворительный ростъ посаженныхъ кусочковъ. Размноженіе эпителиальныхъ клѣтокъ наблюдалось на 2—3 дневныхъ культурахъ. Растущія эпителиальныя клѣтки мы изслѣдовали въ живомъ состояніи при увеличеніи съ иммерсионной системой, а затѣмъ на фиксированныхъ препаратахъ. Выросшіе элементы располагаются правильными рядами на подобіе того, какъ они расположены нормально въ эпидермисѣ. Форма клѣтокъ большею частію полигональная, съ хорошо замѣтными границами. Въ протоплазмѣ въ живомъ состояніи отчетливо видны блестящія круглыя зернышки, расположенныя очень правильно приблизительно на одинаковомъ разстояніи одно отъ другого. Въ центрѣ клѣтки видно круглое или овальное ядро въ видѣ свѣтлаго, незанятаго зернами пятна. Иногда въ ядрѣ замѣтны ядрышки. Нѣкоторые ядра имѣютъ бисквитообразную форму, что, можетъ быть, указываетъ на процессъ дѣленія ядра. Наконецъ, въ нѣкоторыхъ клѣткахъ имѣется по два ядра. И здѣсь, какъ въ культурахъ мочевого пузыря, наблюдалось образованіе полостей въ питательной средѣ, выстланныхъ по краямъ много-

слои́нымъ эпители́емъ. Очевидно, эпители́альныя клѣтки при дан-
ныхъ усло́віяхъ роста выдѣляютъ какой-то ферментъ, растворя-
ющій фибринъ.

Кромѣ эпители́альныхъ клѣтокъ, на этихъ культурахъ наблю-
далось образованіе и размноженіе и отростчатыхъ элементовъ, но
съ противоположной отъ эпители́ального покрова стороны поса-
женного кусочка.

11. Опыты культивированія саркомы человека.

Намъ удалось два раза посадить саркому человека на инород-
ной плазмѣ. Ростъ культуръ получился въ обоихъ случаяхъ, хотя
и не особенно сильный. Въ одномъ случаѣ, вмѣстѣ съ посадкой
на инородной плазмѣ, была произведена посадка и на плазмѣ од-
нородной, полученной изъ крови здороваго человека. Но посадка
эта оказалась неудачной, такъ какъ во всѣхъ культурахъ свер-
нувшаяся плазма въ теченіе перваго же дня совершенно разжи-
жилась и посаженные кусочки свободно плавали въ жидкости.
Разжиженіе свернувшейся человѣческой плазмы въ культурахъ
было отмѣчено ранѣе и другими авторами (*Carrel* ⁷), *Hadda* ¹⁴).

Въ первомъ случаѣ нами были посажены кусочки веретенооб-
разно-клѣточковой саркомы сальника на плазмѣ собаки. Посадка
была произведена часа черезъ два послѣ удаленія опухоли. По-
садочный матеріалъ въ теченіе этихъ двухъ часовъ сохранялся
при комнатной температурѣ.

Въ первые два дня никакихъ признаковъ роста въ культурахъ
не наблюдалось. Въ частности, совершенно не замѣчалось эмигра-
ціи блуждающихъ элементовъ изъ посаженного кусочка въ плаз-
матическую среду. Начиная съ 3-го дня, въ нѣкоторыхъ культу-
рахъ замѣченъ былъ ростъ въ видѣ небольшихъ выступовъ изъ
посаженного кусочка. На фиксированныхъ и окрашенныхъ пре-
паратахъ 3-дневныхъ культуръ оказалась слѣдующая картина.
Клѣточные элементы внутри посаженного кусочка сохранились
вполнѣ хорошо. По краямъ кусочка имѣлись выступы, состояв-
шіе изъ крупныхъ клѣтокъ, съ большими овальными ядрами,
бѣдными хроматиномъ. Ядра были не контурированы и содержа-
ли внутри 1—3 ядрышка. Протоплазма этихъ элементовъ на-
столько слабо окрашивалась, что границы клѣтокъ видны были
очень неясно. Выступы состояли не изъ отдѣльныхъ клѣтокъ, а изъ
группъ ихъ, при чемъ ясно отграничить одну клѣтку отъ другой не
представлялось возможнымъ.

Въ слѣдующіе дни жизни культуръ размѣръ клѣточныхъ выстуговъ значительно увеличился, но характеръ ихъ остался тотъ же самый (Рис. XIV). При сравненіи выросшихъ клѣтокъ съ саркоматозными элементами, расположенными внутри посаженного кусочка, не трудно было убѣдиться въ одинаковомъ характерѣ тѣхъ и другихъ клѣтокъ. Форма и строеніе ядра въ посаженныхъ клѣткахъ и въ выросшихъ элементахъ были совершенно одинаковы. Одинаково было и взаимное расположеніе элементовъ между собой, почти безъ всякихъ границъ. Поэтому едва ли возможно сомнѣніе въ томъ, что выросшіе элементы представляются истинными саркоматозными клѣтками.

Въ 3-дневныхъ культурахъ среди новообразованныхъ саркоматозныхъ клѣтокъ фигуры дѣленія встрѣчались очень рѣдко, что указываетъ на слабый ростъ культуры. Въ слѣдующіе дни уже легче было найти фигуры каріокинеза. А въ 9-дневныхъ культурахъ число фигуръ дѣленія было довольно значительное, и ростъ саркоматозныхъ элементовъ былъ довольно сильный (Рис. XIV, 3). Посаженный кусочекъ былъ окруженъ густой новообразованной тканью, состоящей преимущественно изъ саркоматозныхъ клѣтокъ. Но среди этихъ элементовъ попадались уже клѣтки, близко стоявшія по своему виду къ обыкновеннымъ отростчатымъ клѣткамъ. (Рис. XIV, 4). Ядра у этихъ послѣднихъ меньшей величины, чѣмъ у саркоматозныхъ клѣтокъ, сильнѣе красятся, а, главное, форма этихъ клѣтокъ хорошо различима, влѣдствіе болѣе интенсивной окраски протоплазмы. Сказать съ увѣренностью, что эти элементы относятся къ отростчатымъ клѣткамъ, или что они представляются измѣненными саркоматозными клѣтками, мы не можемъ. На 10—13 дневныхъ культурахъ ростъ и размноженіе посаженныхъ элементовъ прекратился.

Въ другомъ случаѣ нами посажены были на плазмѣ кролика кусочки кругло-кѣточковой саркомы лимфатической железы человѣка. Картина роста въ культурахъ этой саркомы получилась иная, чѣмъ въ первомъ случаѣ. Такъ, уже черезъ нѣсколько часовъ послѣ посадки наблюдалась сильная эмиграція мелкихъ клѣточныхъ элементовъ изъ посаженного кусочка въ окружающую плазму. (Рис. XV). Въ однодневныхъ культурахъ эта эмиграція достигала уже значительныхъ размѣровъ. На фиксированныхъ и окрашенныхъ препаратахъ эмигрировавшіе элементы оказались мелкими клѣтками, частію круглой, частію неправильной формы. Ядра у этихъ элементовъ большею частію имѣли круглую форму, но попадались и такія клѣтки, у которыхъ ядра имѣли неправильную форму, вытянутую въ длину, бухтообразную и т. п.

Ядра довольно рѣзко воспринимали окраску и по своей структурѣ въ общемъ были одинаковы съ элементами посаженной кругло-клеточковой саркомы. Слѣдовательно, эти выселившіяся блуждающія мелкія клетки относились къ саркоматознымъ элементамъ. Уже въ 18-часовыхъ культурахъ удалось, хотя и въ небольшомъ количествѣ найти фигуры дѣленія среди эмигрировавшихъ саркоматозныхъ клетокъ. (Рис. XV, 3).

Кромѣ круглыхъ клетокъ, въ посадочномъ матеріалѣ встрѣчались также въ небольшомъ количествѣ многоядерныя гигантскія клетки. Оказалось, что и эти послѣднія довольно энергично эмигрируютъ изъ посаженного кусочка въ окружающую плазму, иногда на значительное разстояніе.

Измѣненіе первоначально круглой формы всей клетки и ядра наблюдалось не только среди блуждающихъ клетокъ, но также и среди клетокъ, находившихся внутри посаженного кусочка. Это указываетъ, что и внутри посаженного кусочка происходитъ передвиженіе клетокъ.

На 2-дневныхъ культурахъ въ центральныхъ частяхъ болѣе крупныхъ кусочковъ наблюдается уже явленіе некроза посаженныхъ элементовъ. За то эмиграція и размноженіе саркоматозныхъ клетокъ выражены здѣсь сильнѣе, чѣмъ раньше. Среди выселившихся клетокъ появляются, хотя въ небольшомъ количествѣ, вытянутые мелкіе элементы веретенообразной формы.

Между этими вытянутыми клетками и обыкновенными саркоматозными не трудно найти переходныя формы. Главная масса вытянутыхъ клетокъ расположена непосредственно вокругъ кусочка въ видѣ тонкихъ лучей. Эти клетки лежатъ какъ въ самомъ кусочкѣ, такъ и вдали отъ него. Ядро у нихъ большею частію овальное съ ядрышками. Встрѣчаются клетки и съ неправильнымъ ядромъ. Подобныя клетки съ неправильнымъ ядромъ имѣются и среди саркоматозныхъ клетокъ посаженного кусочка.

Въ 3-дневныхъ культурахъ наблюдается уже довольно сильное развитіе вытянутыхъ клетокъ, которыя располагаются не только около, но и внутри самого кусочка. (Рис. XVI, 1, 2). Довольно легко найти фигуры дѣленія этихъ элементовъ. (Рис. XVI, 3). Что касается круглыхъ клетокъ, то на 3-дневныхъ культурахъ онѣ менѣе замѣтны, чѣмъ раньше.

Въ 4—5 дневныхъ посадкахъ наблюдается постепенное увеличеніе количества вытянутыхъ клетокъ, какъ вокругъ кусочка, такъ и вдали отъ него. Въ это время и самъ кусочекъ рѣзко отличается по своимъ клеточнымъ элементамъ, имѣющимъ большею частію вытянутую форму, отъ первоначальнаго своего вида при

посадкѣ. Эти вытянутыя клѣтки относятся, по всей вѣроятности, къ саркоматознымъ элементамъ. Между ними и обыкновенными блуждающими саркоматозными клѣтками наблюдаются переходныя формы. Такъ, у нѣкоторыхъ изъ веретенообразныхъ клѣтокъ ядро имѣетъ неправильную форму и густо окрашивается, что встрѣчается у большинства саркоматозныхъ элементовъ. Появленіе вытянутыхъ клѣтокъ вдали отъ посаженного кусочка всего легче объяснить здѣсь такимъ образомъ, что эти элементы образовались изъ эмигрировавшихъ саркоматозныхъ клѣтокъ. Дѣйствительно, въ культурахъ этой саркомы совершенно не наблюдалось появленія тѣхъ гипертрофированныхъ клѣтокъ, изъ которыхъ обыкновенно развиваются на посадкахъ отростчатыя клѣтки. На основаніи этого мы думаемъ, что развившіяся въ этой посадкѣ мелкія веретенообразныя клѣтки относятся къ измѣненнымъ саркоматознымъ элементамъ, а не къ отростчатымъ клѣткамъ.

Сдѣланное нами краткое обзорѣніе роста различныхъ тканей и органовъ внѣ организма подтверждаетъ высказанную Carrel'емъ мысль о способности къ росту и размноженію *in vitro* по крайней мѣрѣ нѣкоторыхъ специфическихъ элементовъ животного организма. При извѣстномъ сходствѣ общей картины роста различныхъ тканей на посадкахъ, замѣчаются однако тѣ или другія особенности при выращиваніи каждой отдѣльной ткани, каждаго отдѣльнаго органа. Подробное изученіе этихъ особенностей, несомнѣнно, прольетъ свѣтъ на многіе темныя еще вопросы въ этой области.

ОБЪЯСНЕНИЕ КЪ РИСУНКАМЪ.

Въ поясненіе сдѣланнаго нами описанія различныхъ картинъ, наблюдавшихся при культивированіи различныхъ органовъ и тканей, прилагаются рисунки, сдѣланные съ натуры съ наиболѣе характерныхъ препаратовъ.

Рис. 1. Однодневная культура лейкемической крови на плазмѣ кролика. Выселеніе и размноженіе бѣлыхъ тѣлецъ. Ув. 800.

1. Край посаженного свертка крови съ большимъ количествомъ красныхъ тѣлецъ.
2. Густой поясъ изъ выселившихся бѣлыхъ кровяныхъ тѣлецъ непосредственно вокругъ свертка.

3. Больше редкое расположение выселившихся тѣлецъ вдали отъ свертка.
4. Одноядерные элементы, частью съ нейтрофильной зернистостью въ протоплазмѣ.
5. Одноядерные элементы съ пикнотичнымъ ядромъ.
6. Фигуры каріокинетического дѣленія клѣтокъ.
7. Фигура дѣленія нейтрофильнаго міелоцита.
8. Фигура дѣленія эозинофильнаго міелоцита.
9. Блуждающіе нейтрофильные лейкоциты.
10. Блуждающіе эозинофильные лейкоциты и міелоциты.

Рис. II. Четырехдневная культура лейкемической крови на плазмѣ кролика. Развитие гипертрофированныхъ клѣтокъ; постепенное измѣненіе формы ихъ; образованіе отростчатыхъ клѣтокъ. Ув. 800.

1. Красныя кровяныя тѣльца.
2. Нейтрофильные лейкоциты.
3. Міелобласты (лимфоциты).
4. Гипертрофированныя клѣтки разной величины.
5. Переходъ гипертрофированныхъ клѣтокъ отъ круглой къ вытянутой формѣ.
6. Отростчатая клѣтка.

Рис. III Восьмидневная культура лейкемической крови на плазмѣ кролика. Макрофаги. Переходныя формы отъ гипертрофированныхъ клѣтокъ къ макрофагамъ. Ув. 800.

1. Красныя кровяныя тѣльца, частью измѣненныя.
2. Нейтрофильные лейкоциты.
3. Гипертрофированныя клѣтки.
4. Макрофаги.

Рис. IV. Шестидневная культура лейкемической крови на плазмѣ собаки. Образованіе гигантскихъ клѣтокъ вокругъ волокнца. Переходныя формы отъ гипертрофированныхъ клѣтокъ къ гигантскимъ. Ув. 800.

1. Красныя кровяныя тѣльца.
2. Нейтрофильные лейкоциты, частью распадающіеся.
3. Блуждающія одноядерныя клѣтки съ пузырькообразнымъ ядромъ.
4. Міелоциты съ бухтообразнымъ ядромъ.
5. Міелобласты (лимфоциты).
6. Гипертрофированныя клѣтки.
7. Фигура дѣленія гипертрофированной клѣтки.
8. Гигантскія клѣтки.
9. Отростчатая клѣтка.
10. Хлопчато-бумажное волокнце.

Рис. V. Восьмидневная культура лейкемической крови на плазмѣ кролика. Кѣтки, пристающія къ стеклу. Отростчатые кѣтки, переплетающіяся между собой и образующія подобіе крупно-петливой ткани. Ув. 180.

Рис. VI. Схема прогрессивнаго развитія мієлобласта (лимфоцита). См. стр. 62.

Рис. VII. Пятидневная культура костнаго мозга собаки на собственной плазмѣ. Ткань изъ отростчатыхъ кѣтокъ, развившихся вокругъ посаженнаго комочка костнаго мозга. (Самого комочка не видно). Фигуры дѣленія отростчатыхъ кѣтокъ. Ув. 550.

1. Нейтрофильные лейкоциты, частью распадающіеся.
2. Гипертрофированные кѣтки.
3. Фигуры дѣленія гипертрофированныхъ кѣтокъ.
4. Отростчатые кѣтки, расположенныя частью изолированно, частью группами въ видѣ тяжей, состоящихъ изъ нѣсколькихъ кѣтокъ, плотно прилегающихъ одна къ другой.
5. Фигуры дѣленія отростчатыхъ кѣтокъ.
6. Макрофагъ.

Рис. VIII. Шестидневная культура сердца щенка на плазмѣ собаки. Общая картина роста при слабomъ увеличеніи. Новообразованная густая ткань, состоящая главнымъ образомъ изъ веретенообразныхъ и отростчатыхъ кѣтокъ. Видно много фигуръ дѣленія. Ув. 200.

1. Край посаженнаго кусочка, густо проросшій отростчатыми кѣтками.
2. Болѣе рѣдкое расположеніе кѣтокъ вдали отъ кусочка.

Рис. IX. Трехдневная культура сердца щенка на плазмѣ собаки. Новообразованная ткань изъ отростчатыхъ кѣтокъ, располагающаяся вдали отъ посаженнаго кусочка. Ув. 1000.

1. Нейтрофильные лейкоциты.
2. Отростчатые кѣтки.
3. Фигуры дѣленія отростчатыхъ кѣтокъ.

Рис. X. Пятидневная культура сердца щенка на плазмѣ собаки. Макрофаги, поѣдающіе некротизированные мышечныя волокна. Ув. 1000.

1. Мышечныя волокна въ состояніи некроза.
2. Измѣненные ядра мышечныхъ волоконъ, лежащія свободно.
3. Очень крупныя макрофаги съ многочисленными вакуолями, содержащими остатки мышечныхъ волоконъ.
4. Фигура дѣленія макрофага.
5. Отростчатые кѣтки.

Рис. XI. Шестидневная культура слизистой оболочки мочевого пузыря щенка на плазмѣ собаки. Группа новообразованныхъ эпителиальныхъ клѣтокъ, съ тремя фигурами дѣленія. Ув. 550.

Рис. XII. Трехдневная культура легкаго щенка на плазмѣ собаки. Группа гипертрофированныхъ клѣтокъ и макрофаговъ. Эти клѣтки расположены на значительномъ разстояніи отъ посаженного кусочка въ видѣ изолированной группы, состоящей изъ большого числа клѣтокъ. Ув. 1000.

1. Гипертрофированныя клѣтки.
2. Макрофаги.

Рис. XIII. Шестидневная культура хряща изъ пункта окостенѣнія бедра щенка на плазмѣ собаки. Ув. 360.

1. Костныя балки изъ посаженного кусочка.
2. Хрящевыя клѣтки.
3. Группы хрящевыхъ клѣтокъ.
4. Фигуры дѣленія хрящевыхъ клѣтокъ.
5. Отростчатыя клѣтки, расположенныя между костными перекладинами.
6. Отростчатыя клѣтки вдали отъ посаженного кусочка между хрящевыми элементами.

Рис. XIV. Девятидневная культура веретенообразно-клѣточковой саркомы сальника человѣка на плазмѣ собаки. Ув. 360.

1. Край посаженного кусочка саркомы.
2. Новообразованная ткань, состоящая изъ саркоматозныхъ элементовъ.
3. Фигуры дѣленія саркоматозныхъ клѣтокъ.
4. Клѣтки, по своему виду приближающіяся къ отростчатымъ.

Рис. XV. 18-часовая культура кругло-клѣточковой саркомы лимфатической железы человѣка на плазмѣ кролика. Сильная эмиграція посаженныхъ саркоматозныхъ клѣтокъ изъ кусочка въ окружающую питательную среду. Измѣненіе первоначально-круглой формы клѣточного тѣла и ядра у большинства элементовъ. Ув. 1000.

1. Край посаженного кусочка саркомы, состоящій какъ изъ круглыхъ клѣтокъ, такъ и изъ клѣтокъ неправильной формы.
2. Выселившіеся изъ кусочка саркоматозные элементы самой разнообразной формы. Пространство, занятое выселившимися клѣтками, значительно больше, чѣмъ видно на рисункѣ.
3. Фигуры дѣленія саркоматозныхъ клѣтокъ.
4. Саркоматозная клѣтка, содержащая въ вакуолѣ включенія.

Рис. XVI. Трехдневная культура кругло-клеточковой саркомы лимфатической железы человека на плазме кролика. Превращение круглых клеток саркомы в вытянутые. Ув. 1000.

1. Край посаженного кусочка саркомы, состоящий почти исключительно из клеток с вытянутыми ядрами.
2. Вытянутые клетки, расположенные вокруг кусочка.
3. Фигура деления вытянутой клетки.
4. Круглые клетки в ничтожном количестве.

Литература.

1. *Harrison R.* Observations on living developing nerve fibres. Proc. of the Soc. for Exp. Biolog. and Med. 1907. p. 140. Цит. по Carrel'ю № 41.
2. *Burrows M.* Culture des tissus d'embryon de poulet et spécialement cultures des nerfs de poulet en dehors de l'organisme. Compt. rend. Soc. de Biologie. 1910. t. 69. p. 291.
3. *Carrel A. et Burrows M.* La culture des tissus adultes en dehors de l'organisme. C. R. Soc. de Biol. 1910. t. 69 p. 293.
4. — Culture de substance rénale en dehors de l'organisme. Ibid. 1910. t. 69. p. 298.
5. — Culture de moelle osseuse et de rate. Ibid. 1910. p. 299.
6. — Culture de sarcome en dehors de l'organisme. Ibid. 1910. p. 332.
7. — Culture in vitro d'un sarcome humain. Ibid. 1910. p. 367.
8. — Cultures primaires, secondaires et tertiaires de glande thyroïde et culture de péritoine. Ibid. 1910. p. 328.
9. — Seconde génération de cellules thyroïdiennes. Ibid. 1910. p. 365.
10. *Jolly J.* A propos des communications de Carrel et Burrows sur la culture des tissus. Ibid. 1910. p. 470.
11. *Carrel et Burrows.* A propos des cultures «in vitro» des tissus de mammifères. Ibid. 1911. t. 70. p. 3.
12. *Jolly J.* Observations à l'occasion de la communication de Carrel et Burrows. Ibid. 1911. p. 4.
13. *Braus H.* Demonstration und Erläuterung von Deckglas-kulturen lebender Embryonalzellen und—organe. Münch. Med. Woch. 1911. S. 2420.
14. *Hadda S.* Die Kultur lebender Körperzellen. Berl. Klin. Woch. 1912. S. 11.

15. *Ruth E.* Cicatrization of Wunds in vitro. Journ. of Exper. Med. 1911. V. XIII. p. 421. Цит. по Мед. Обзор. 1911. стр. 623.
16. — The Influence of distilled Water on the Healing of Skin Wounds in Frog. Journ. of Exper. Med. 1911. Vol. XIII. № 5. Цит. по Centrbl. f. Allg. Path. 1911. S. 920.
17. *Lambert R. und Hanes F.* The Cultivation of Tissue in Plasma from alien Species. Ibid. 1911. V. XIV. № 2. Цит. по Centrbl. f. Allg. Path. 1911. S. 920.
18. — Characteristics of Growth of Sarcoma and Carcinoma cultivated in vitro. Ibid. Vol. XIII. 1911. № 5. Цит. по Centrbl. f. Allg. Path. 1911. S. 921.
19. — A Study of Cancer Immunity by the Method of Cultivating Tissues outside the Body. Ibid. Vol. XIII. 1911. № 5. Цит. по Centrbl. f. Allg. Path. 1911. S. 921.
20. *Carrel A.* Neue Fortschritte in der Kultivierung der Gewebe ausserhalb des Organismus. Berl. Klin. Woch. 1912. S. 533.
21. — Neue Methoden zum Studium des Weiterlebens von Geweben in vitro. Handb. d. Biochem. Arbeitsmethoden, von Abderhalden. 1912. Bd. VI. S. 519.
22. — Neue Untersuchungen über das selbständige Leben der Gewebe und Organe. Berl. Klin. Woch. 1913. S. 1097.
23. *Lambert R. und Hanes F.* Beobachtungen an Gewebeskulturen in vitro. Virchows Archiv. 1913. Bd. 211. S. 89.
24. *Marinesco et Minèa.* Sur le rajeunissement des cultures de ganglions spinaux. Compt. R. Soc. de Biol. 1913. f. 74. p. 299.
25. *Levaditi C. et Mutermilch S.* Action de la toxine diphtérique sur la survie des cellules in vitro. Ibid. 1913. p. 379.
26. *Doyen, Lytchkowsky, Browne et m-lle Smyrnoff.* Culture de tissus normaux et de tumeurs dans le plasma d'un autre animal. Ibid. 1913. p. 1331.
27. *Carrel A.* Die Kultur der Gewebe ausserhalb des Organismus. Berl. Klin. Woch. 1911. S. 1364.
28. *Loeb L. und Fleisher S.* Ueber die Bedeutung des Sauerstoffs für das Wachstum der Gewebe von Säugetieren. Biochem. Zeitschr. 1911. Bd. 36. S. 98.
29. *Levaditi et Mutermilch.* Mode d'action des rayons sur la vie et la multiplication des cellules in vitro. Rayons ultra-violets. Compt. R. Soc. de Biol. 1913. t. 74. p. 1180.
30. *Голяницкий П.* Опыты съ тканевыми культурами. Мед. Обзор. 1912. стр. 1084.
31. *Кринтовский А. и Полевъ Л.* Опыты съ тканевыми культурами. Врач. Газета. 1913. стр. 963.

32. *Carrel et Burrows*. Cultivation in vitro of malignant tumors. Journ. of Exper. Med. 1911. V. XIII. p. 571. Цит. по Мед. Обзор. 1911. стр. 622.
33. *Hadda und Rosenthal*. Ueber den Einfluss der Hämolyse auf die Kultur lebender Gewebe ausserhalb des Organismus. Berl. Klin. Woch. 1912. S. 1653.
34. *Foot N.* Ueber das Wachstum von Knochenmark in vitro. Ziegler's Beiträge. Bd. 53. S. 446.
35. — Ueber das Verhalten des Hühnerknochenmarks gegen Immunplasma in den Zellkulturen nach Carrel. Centr-bl. f. Allg. Path. 1912. S. 577.
36. *Lüdke H.* Ueber Antikörperbildung in Kulturen lebender Körperzellen. Berl. Klin. Woch. 1912. S. 1034.
37. *Levaditi et Mutermilch*. La sérothérapie antidiphtérique préventive et curative des éléments cellulaires, a l'état de vie prolongée in vitro. Compt. R. Soc. de Biol. 1913. t. 74. p. 614.
38. — Action du venin de Cobra sur la vie et la multiplication des cellules in vitro. Ibid. 1913. p. 1305.
39. — Sérothérapie antivenimeuse sur des cellules en état de vie prolongée et de multiplication in vitro. Ibid. 1913. p. 1379.
40. *Levaditi C.* Symbiose entre le virus de la poliomyélite et les cellules des ganglions spinaux, a l'état de vie prolongée in vitro. Compt. R. Soc. de Biol. 1913. t. 74. p. 1179.
41. *Carrel und Burrows*. Die Technik der Gewebeskultur in vitro. Handb. der Biochem. Arbeitsmethoden, von Abderhalden. 1912. Bd. V. T. 2. S. 836.
42. *Шамовъ В.* Къ вопросу о выращиваніи живыхъ тканей внѣ организма. Рус. Врачъ. 1912. стр. 2043.
43. *Lewis*. The growth of embryonic chick tissues in artificial media, agar and bouillon. Bull. of the Johns Hopkins Hospital. 1911. p. 126. Цит. по Carrel'ю. № 41.
44. *Comandon, Levaditi et Mutermilch*. Etude de la vie et de la croissance des cellules in vitro à l'aide de l'enregistrement cinématographique. Compt. R. Soc. de Biol. 1913. t. 74. p. 464.
45. *Levaditi et Mutermilch*. Contractilité des fragments de coeur d'embryon de poulet in vitro. Ibid. 1913. p. 462.
46. *Doyen, Lytchkowsky et Browne*. La survie des tissus séparés de l'organisme et les greffes d'organes. Ibid. 1913. p. 1084.
47. *Champy C.* Sur les phénomènes cytologiques qui s'observent dans les tissus cultivés en dehors de l'organisme. Ibid. 1912. p. 987.
48. *Ranvier*. Des clasmatoocytes. Compt. R. de l'Académie des sciences. t. 110. p. 165.

49. — Des clasmatocytes, les cellules fixes du tissu conjonctif et les globules du pus. Ibid. t. 116. p. 295.
50. — Des clasmatocytes. Arch. d'anatomie microscopique. 1899—1900. t. 3. p. 123.
51. *Maximow A.* Experimentelle Untersuchungen über die entzündliche Neubildung von Bindegewebe. Ziegler's Beiträge. 1902. V. Suppl.—Heft.
52. Weiteres über Entstehung, Structur und Veränderungen des Narbengewebes. Ibid. 1903. Bd. 34. S. 153.
53. — О воспалительномъ новообразованіи соединительной ткани и судьбѣ лейкоцитовъ при этомъ. Извѣстія В.-Мед. Академіи. 1903. т. 6. стр. 26.
54. *Naegeli O.* Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. Leipzig. 1908. S. 116.
55. *Schridde und Naegeli.* Die haematologische Technik. Jena. 1910. S. 60, 71 и рис. 1, 2, 22.
56. *Weil.* Some observations on the cultivation of tissues in vitro. Journ. of Med. resear. 1912. V. 26. № 1. Цит. по Centrbl. f. Allg. Path. 1912. S. 793.
57. *Авторовъ и Тимофеевскій.* Опытъ выращиванія бѣлой (лейкэмической) крови. Рус. Врачъ. 1913. стр. 549.
58. *Ingebrigtsen.* The Influence of Heat on different Sera as culture Media for Growing Tissues. Journ. of Exper. Med. 1912. V. 15. № 4. Цит. по Голяницкому. Вопросы Научн. Мед. 1913. стр. 42.
59. *Oppel A.* Ueber die Kultur von Säugetiergeweben ausserhalb des Organismus. Anatom. Anzeig. 1912. Bd. 40. S. 464.
60. *Авторовъ и Тимофеевскій.* Опыты культивированія животныхъ тканей внѣ организма. Труды О-ва Естеств. и Врачей при Томск. Унив. 1912. стр. 26.
61. *Pzygode P.* Ueber die Bildung spezificher Agglutinine in künstlichen Gewebskulturen. Wien. Klin. Woch. 1913. S. 841.

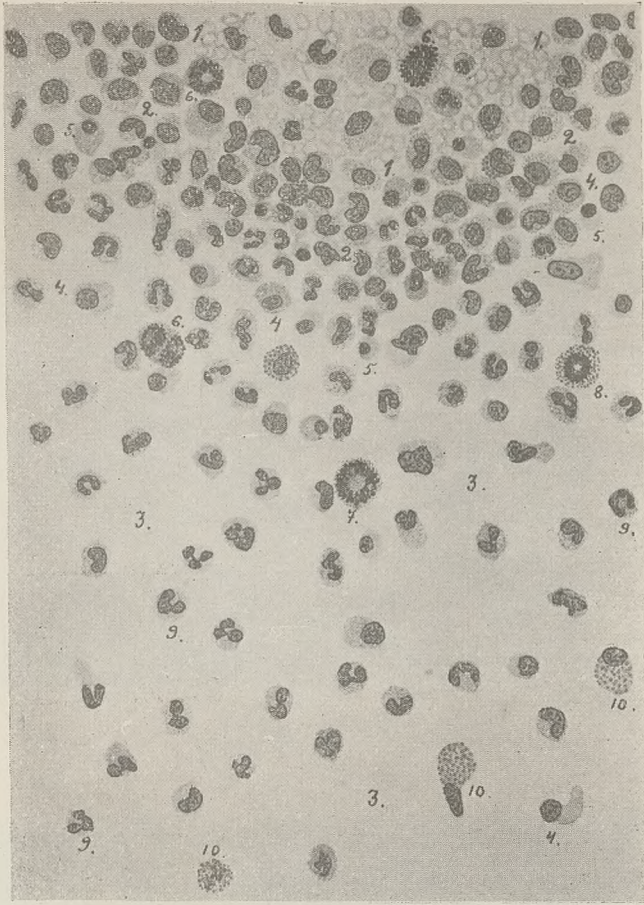


Рис. I.

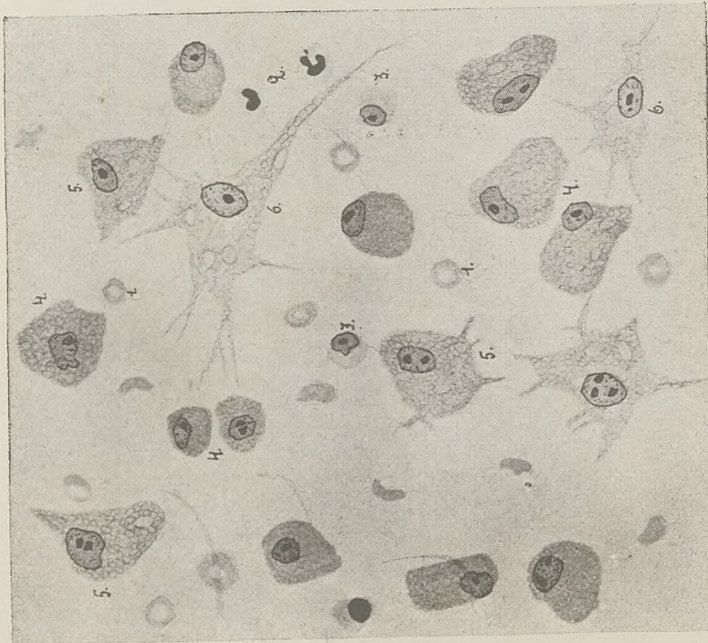


Рис. II.

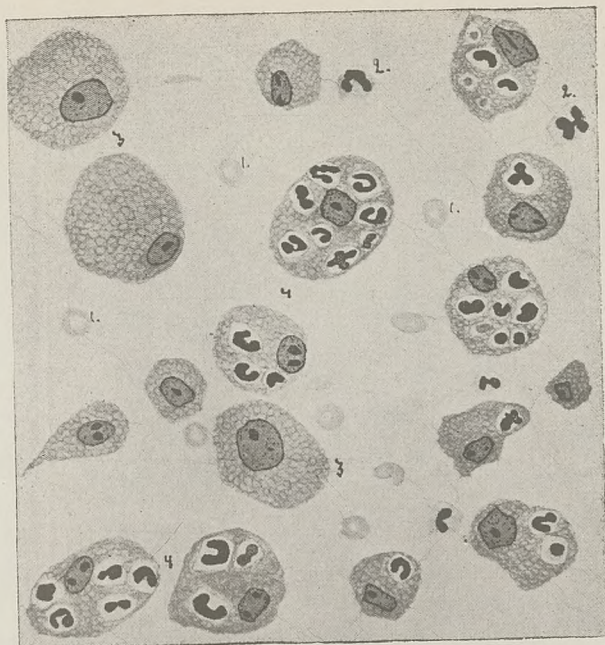


Рис. III.

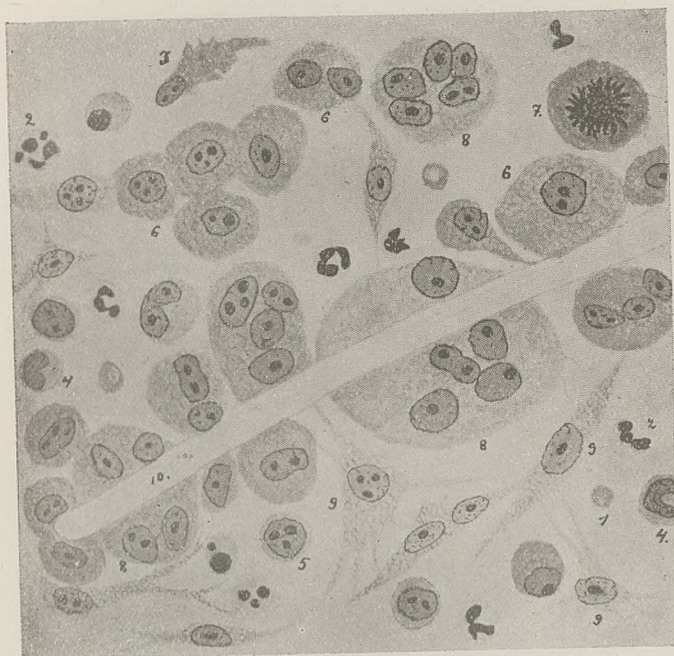
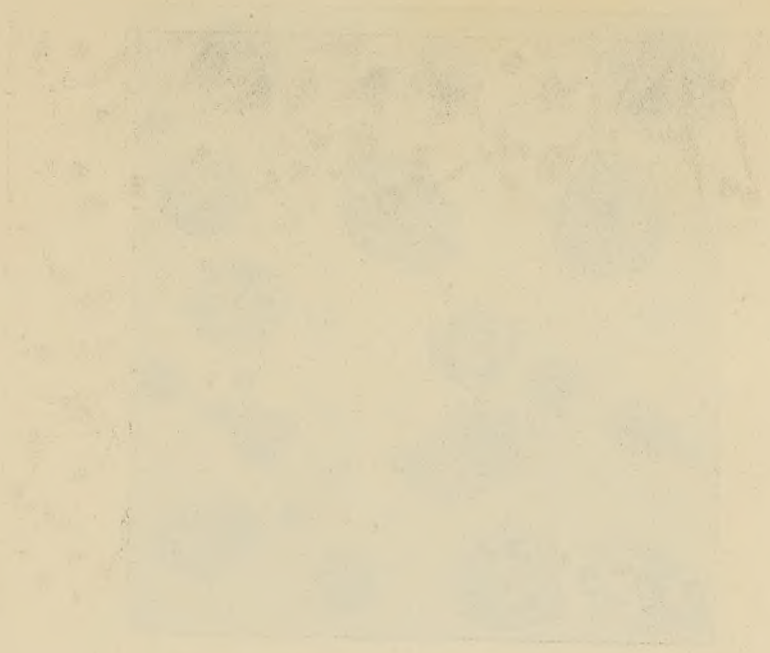


Рис. IV.



1875



1875



Рис. V.

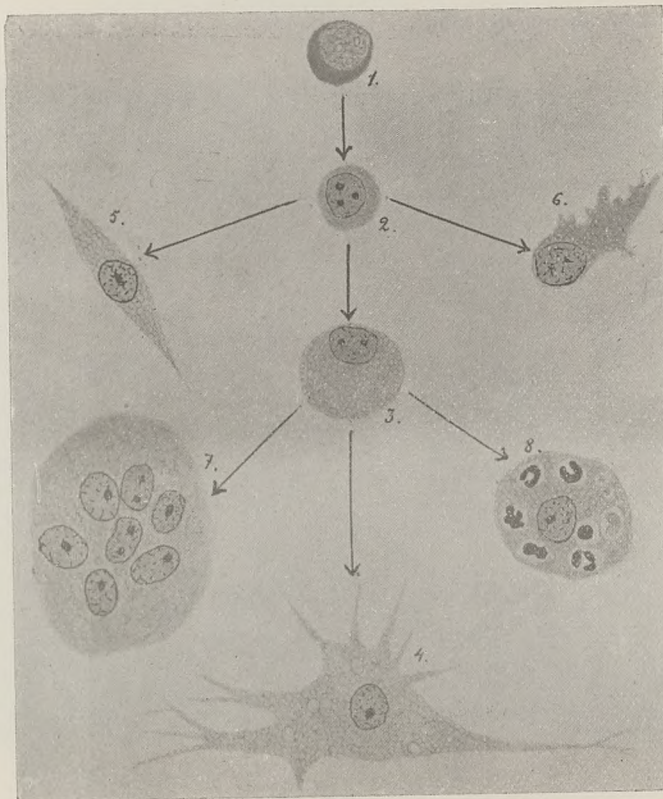


Рис. VI.

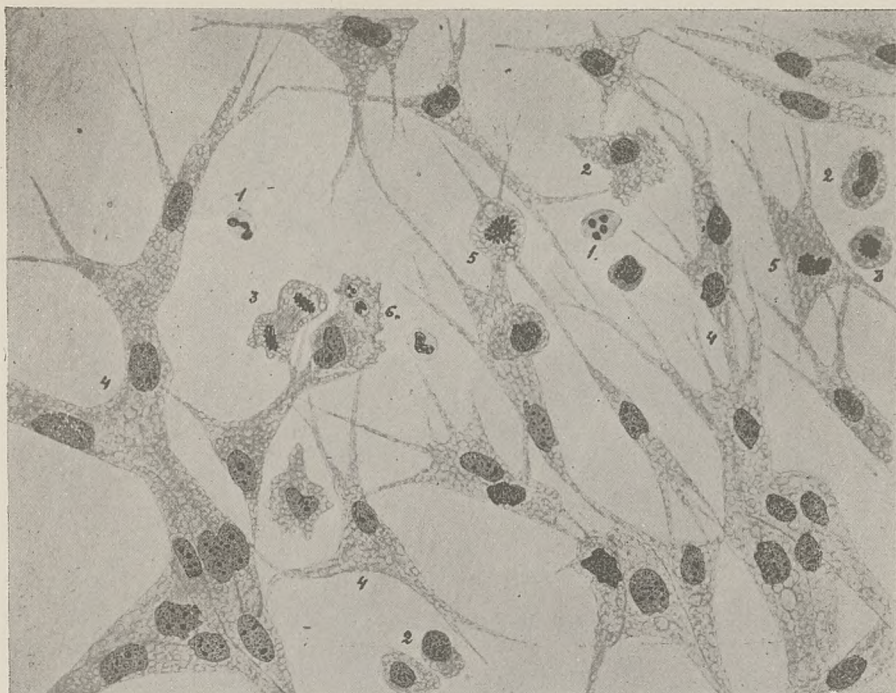


Рис. VII.

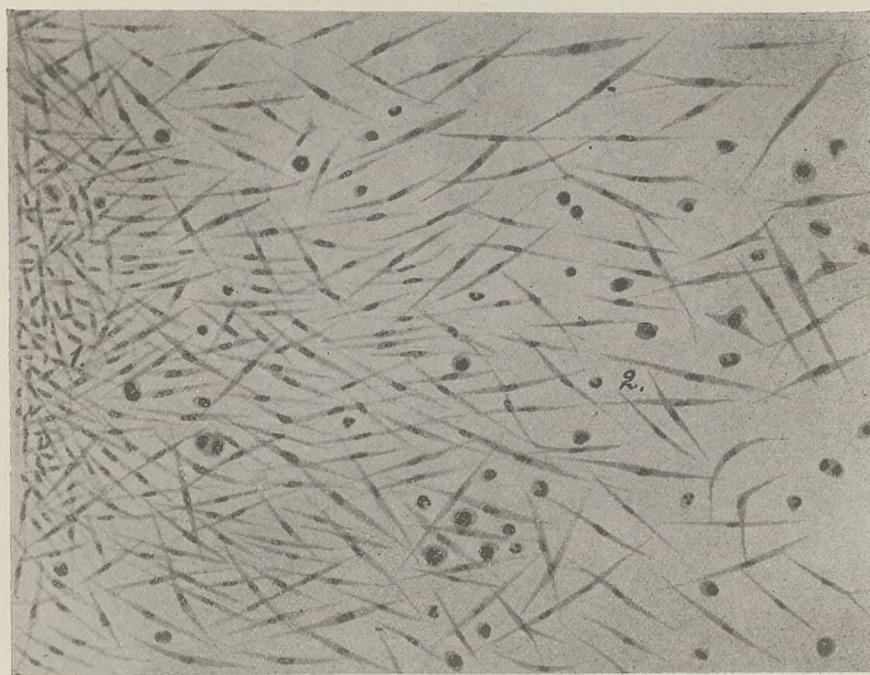


Рис. VIII.

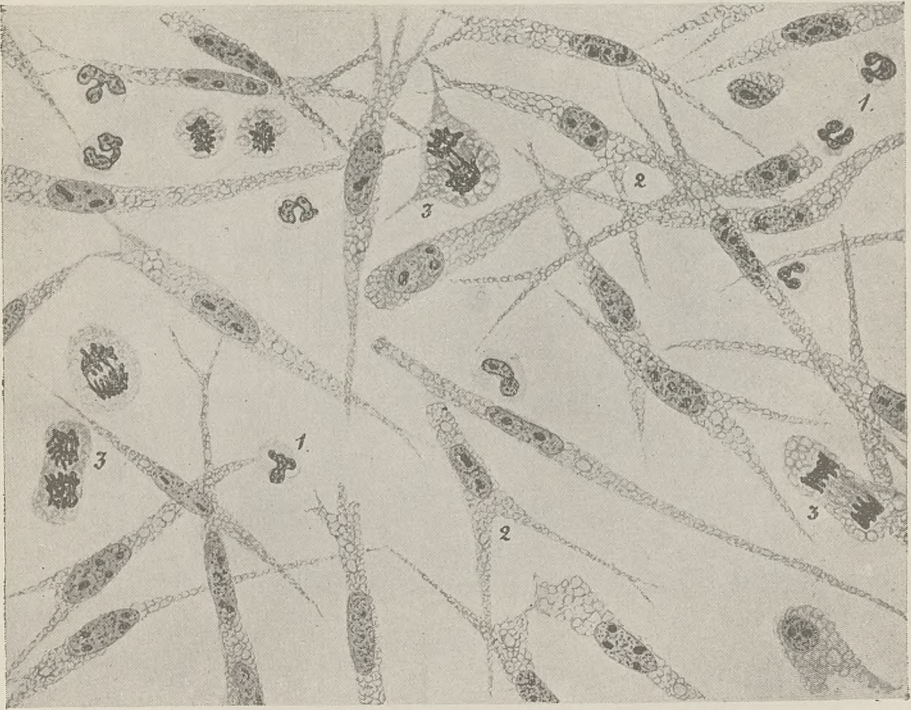


Рис. IX.

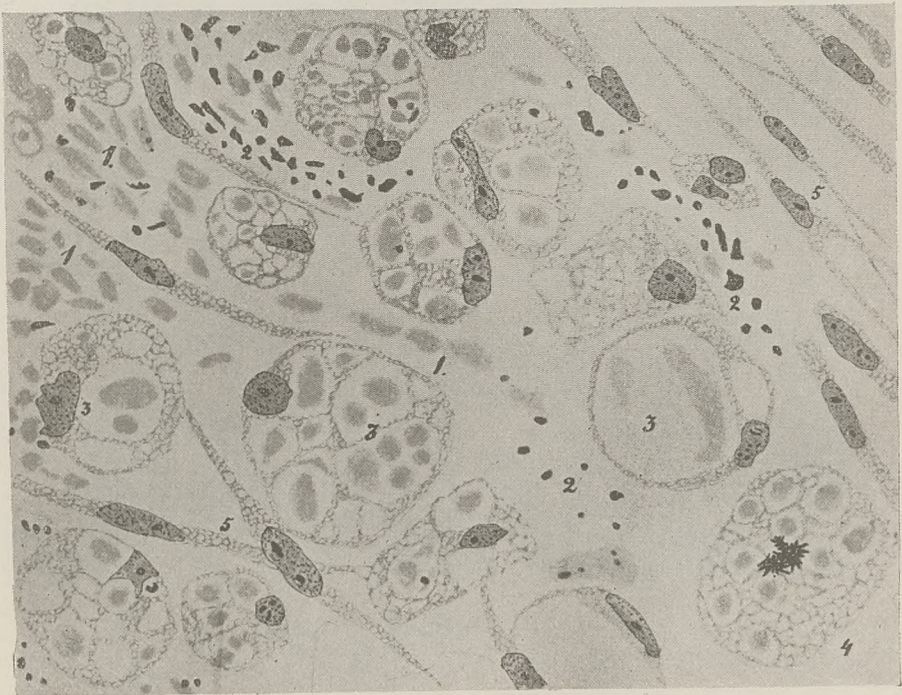


Рис. X.

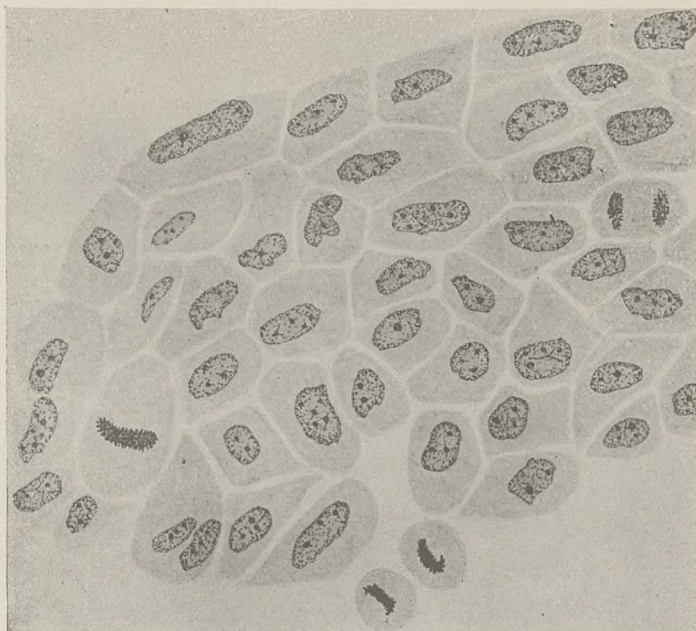


Рис. XI.

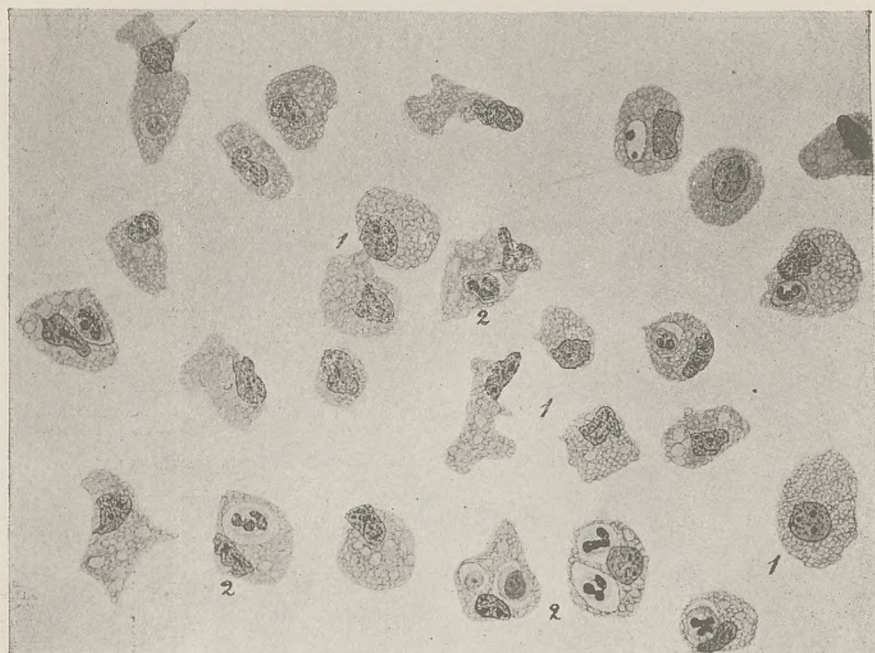


Рис. XII.

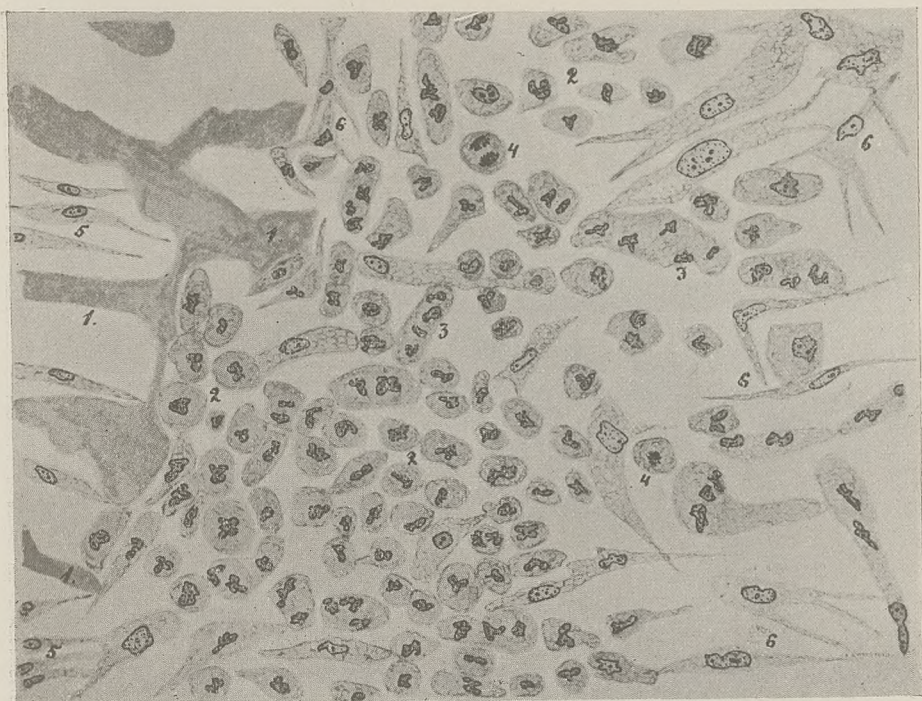


Рис. XIII.

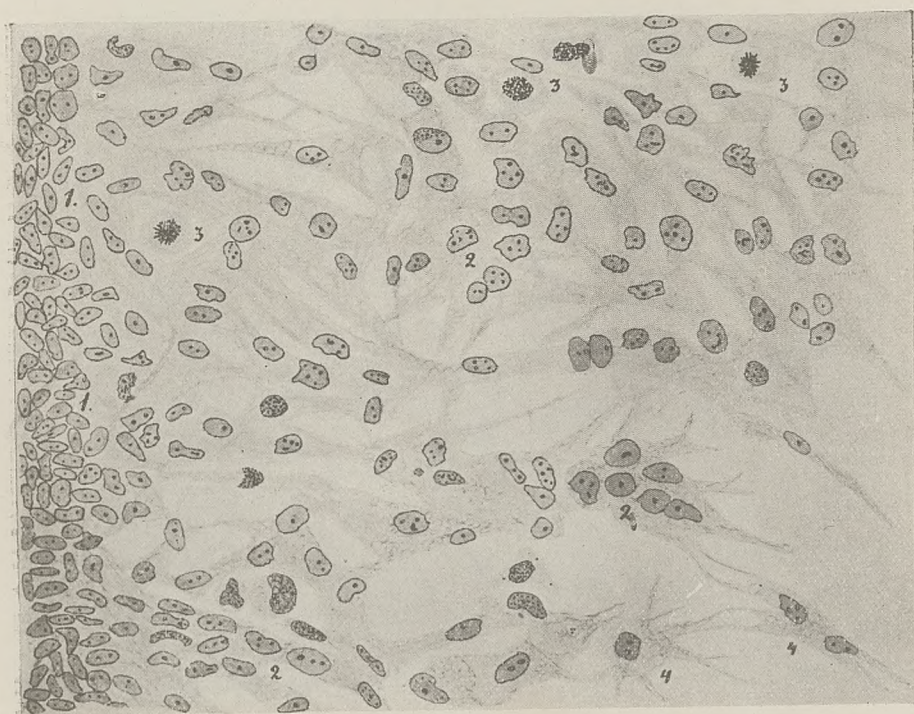


Рис. XIV.

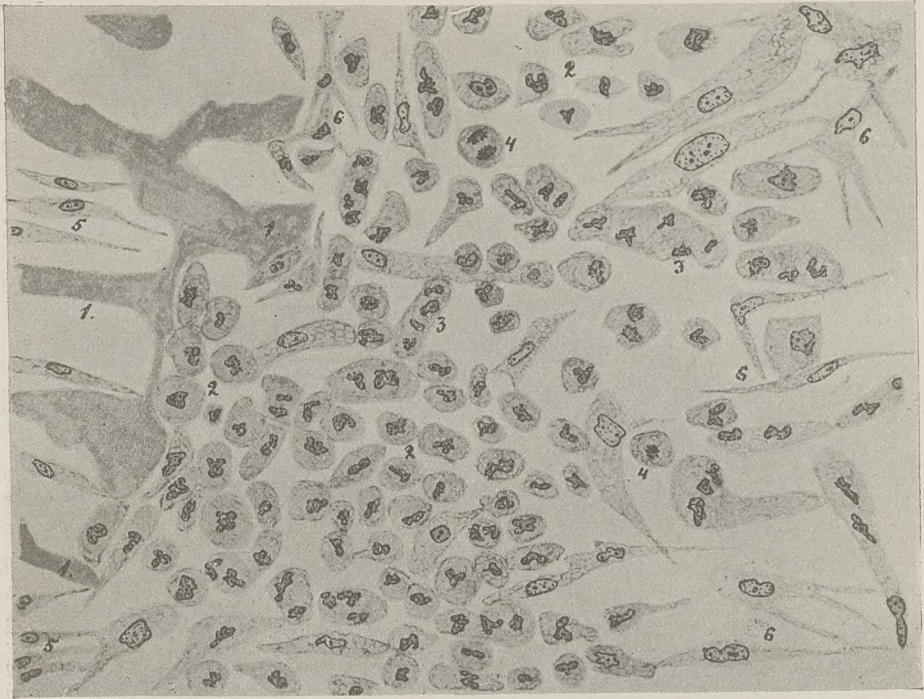


Рис. XIII.

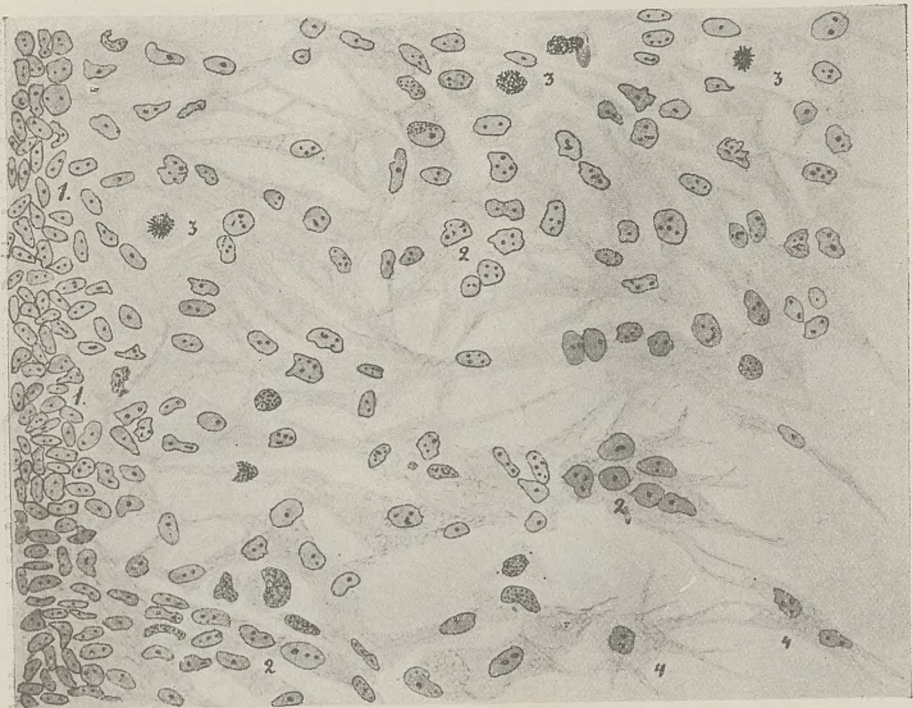


Рис. XIV.

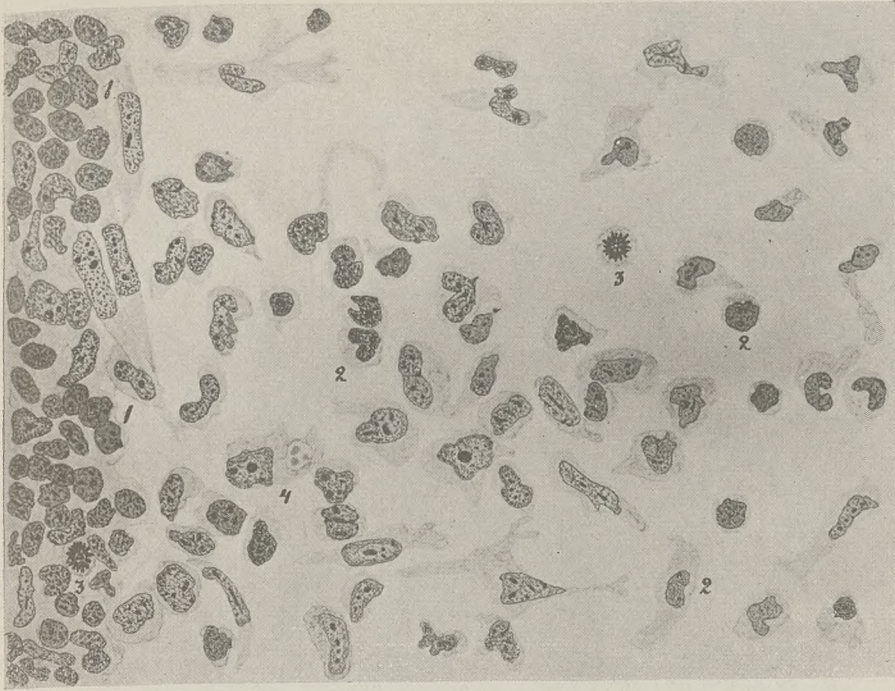


Рис. XV.

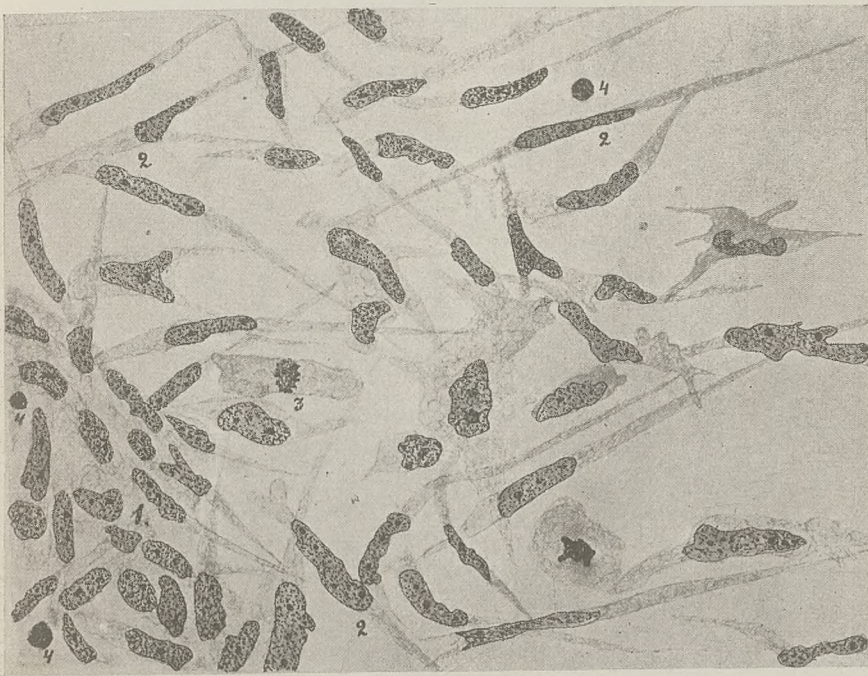


Рис. XVI.

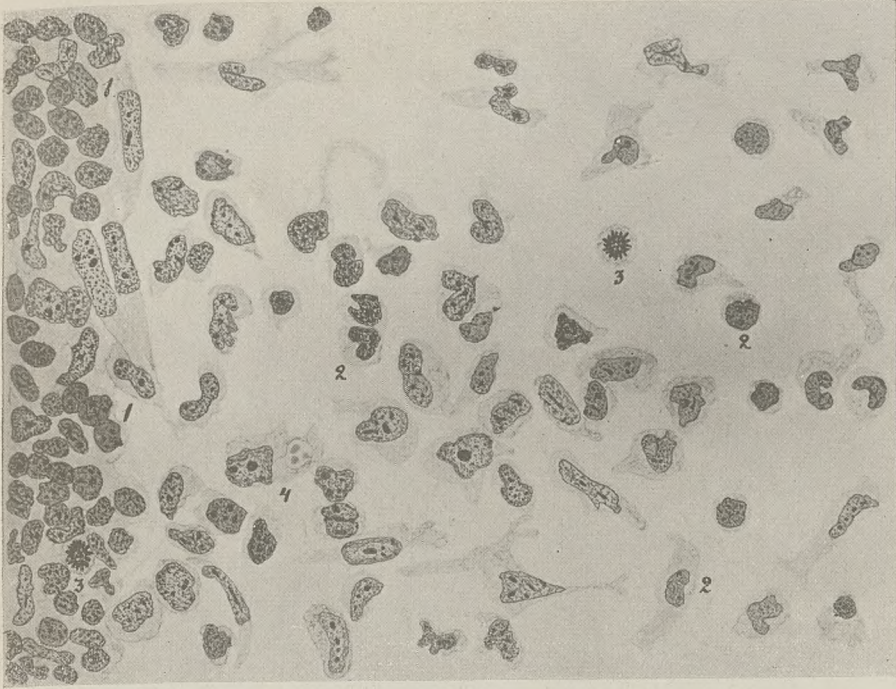


Рис. XV.

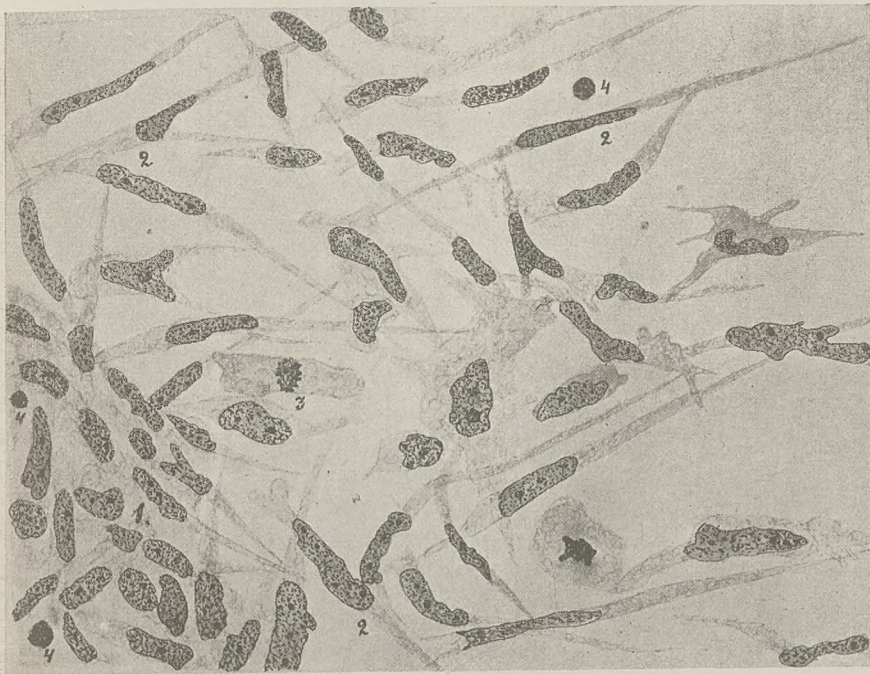


Рис. XVI.

1-535624