

ИСКУССТВЕННОЕ ВЫРАЩИВАНИЕ
НЕРВНОЙ ТКАНИ
ВНЕ ОРГАНИЗМА

Д-ра Л. И. Оморокова

ПРИВАТ-ДОЦЕНТА АКАДЕМИИ

с 31 рис. и таблиц.

(Из Лаборатории клиники нервных и душевных болезней при Военно-Медицинской Академии в Петрограде)

Глубокоуважаемому, Эрнсту
Ивановичу Россиному в Москву
Москва 17/10 22.

ИСКУССТВЕННОЕ ВЫРАЩИВАНИЕ НЕРВНОЙ ТКАНИ ВНЕ ОРГАНИЗМА

Д-ра Л. И. ОМОРОКОВА*).

(ПРИВАТ-ДОЦЕНТА АКАДЕМИИ)

== с 31 рис. на таблицах. ==

* Настоящая работа была мною закончена в 1914 году и должна была быть доложена на международном съезде по неврологии и психиатрии в Берне 7—12 сентября 1914 г. (Congrès international de neurologie, de psychiatrie et de psychologie. Bern. 7—12 septembre 1914) и в июле 1914 г. выходы этой работы мной отосланы в бюро съезда. Величайшая европейская война помешала, как известно, съезду состояться, а моя работа осталась неизданный до настоящего времени в виду прекращения издательской деятельности Догелевского Архива и Неврологического Вестника, куда принималась моя статья. Мною были опубликованы только выводы во „Врачебной Газете“ № 5, 1917 г., а сама статья только теперь появляется в печати в том самом виде, в каком она была уже приготовлена к печати в 1914 году.

Профессор Томского У-та Л. ОМОРОКОВ

ГЛАВА I.

Необходимым условием прогресса всякой науки является открытие и усовершенствование точных методов исследования.

Развитие и усовершенствование этих методов позволяет глубже проникать в тайну строения живого организма и можно с полным правом сказать, что прогресс науки — это прогресс методики.

Всякий новый метод есть в то же самое время новый источник познания, устанавливающий новые данные и новые отношения.

Тот метод, при помощи которого мы пытаемся анализировать функцию и строение нервной системы, а именно — метод искусственного выращивания ткани вне организма, при всей своей новизне уже успел дать ряд крупных данных и дальнейшее развитие его обещает значительно расширить наше знание как морфологии, так и физиологии нервной ткани. В биологических науках, где предметом познания является живой организм чрезвычайной сложности, конгломерат различных тканей, образующих органы, объединенных единой деятельностью, направленной к поддержанию вида изучение в силу необходимости начиналось от общего; изучалась функция органа, связанного с организмом тысячу связей, находящегося под непрерывным воздействием тысячи влияний то возникающих, то угасающих. Возможность выделить, обособить от этих, часто трудно уловимых, влияний живую ткань организма, поставить ее в определенные исследователем установленные условия и изучать сущность жизни такой ткани вне влияния всего организма, было бы чрезвычайно важно. Такое изучение, идущее от более элементарного, от менее сложного скорее может дать нам верное представление о сущности тех процессов, которые, развиваясь в целом организме, в запутанном клубке бесконечного числа взаимоотношений различных элементов, ускользают от взора экспериментатора и не могут быть им прослежены от момента их зарождения до момента угасания.

Harrison'у (27—31) принадлежит первому честь открытия возможности, удалив из живого организма ткань, сохранить ее жизнеспособной и активной в течение продолжительного времени. Первые опыты Harrison'a касались самой чувствительной и наиболее нежной ткани в организме, именно — нервной. Рядом работ с 1907 по 1910 год Harrison (27—31) показал, что эмбриональная ткань лягушки, перенесенная в свернувшуюся лимфу, подвергалась нормальному развитию. Так, в кусочках нервной системы, иссеченных из эмбриона лягушки, можно было наблюдать образование длинных нервных нитей, в том случае, если эти ку-

сочки были помещены в свернувшуюся лимфу, которая петлями фибрина давала надлежащую опору, как бы леса, для вновь растущей ткани, а в плазме содержалось необходимое количество питательного материала. Эти вновь растущие вне организма первые нити, как доказал Harrison, росли по петлям фибрина в силу активности самой протоплазмы.

За последние 5 лет ряд исследователей (Carrel, Burrows и др. 4—12, 2, 3) усовершенствовали и развили этот метод и доказали, что метод изолированного выращивания ткани вне организма применим к тканям не только холоднокровных, но и теплокровных животных.

Литература, посвященная новому методу, разрослась до значительных размеров, и всю ее исчерпать и критически рассмотреть не входит в мою задачу. Она приведена и разобрана с большою тщательностью в целом ряде работ (см. 32, 1, 21, 37, 38 и 45). Настоящая работа посвящена исключительно культуре нервной ткани, поэтому более подробно нам придется останавливаться на работах, посвященных культивированию именно этой ткани.

Авторы, работавшие с тканью теплокровных животных (см. работы Ruth'a (43), Lambert'a (36—37), Carrel'a (4—12), Ingebristen'a (34), Loeb'a и Fleischer'a (39), Hada (26), Oppel'a (41) и Weil'a (47)), доказали возможность применять, как питательную среду, кровяную плазму животного того же вида, от которого берется ткань.

В такой плазме ткань, помещенная в соответственные условия питания, теплоты и темноты, может жить и развиваться в течение весьма продолжительного времени. Наибольшей энергией роста отличается зародышевая ткань, но этой же способностью обладает и ткань взрослых. [Drew (22), Uhlenhut (45)]. Мало того, как показал Champy, могут размножаться *in vitro* элементы даже таких тканей взрослых млекопитающихся, которые в составе нормального организма никогда не проявляют этой способности (Champy 16, 18).

Продолжительность жизни ткани *in vitro* зависит от количества питательного материала той среды, в которой находится культура; пересевами на новую питательную плазму удавалось значительно продолжить жизнь ткани вне организма Carrel 5, 17), так зародышевая соединительная ткань цыпленка у Carrel'a (II), перенеся 358 пересевов, достигла почтенного возраста в 28 месяцев. Повидимому, при соблюдении известных условий ткань может быть „безсмертной“, т. е. в ней самой заложен безконечный источник жизни. Способом действующими стимулирующим образом на рост ткани *in vitro* является прибавление к культуре экстрактов из различных органов (Carrel 5, 11).

Чрезвычайно важным является вопрос, сохраняет ли пересаженная ткань свою функцию, сохраняет ли она все те морфологические особенности, которые образуют ее специфическое отличие от тканей различного происхождения? Этот вопрос в настоящее время решается различно разными авторами. Одни авторы

(Chamru 14, 15, 16 и 17, Chamru и Kritsch 19) полагают, что при искусственном воспитании ткани *in vitro* происходит анаплазия; что пересаженные не только зародышевая, но и взрослая ткань подвергается обратной дифференциации, превращаясь в более элементарную ткань.

Однако, огромное большинство авторов считает, что при искусственном выращивании ткани *in vitro* различные дифференцированные клеточные формы существуют во все время своей жизни вне организма такими же различными, как и при своей жизни в организме, напр. эпителий и соединительная ткань продолжают существовать в культурах быть резко отличными друг от друга (Congdon 20, Lambert 32, Lambert и Hanes 38).

В некоторых случаях можно наблюдать развитие даже более сложных форм, напр. Авроров и Тимофеевский наблюдали развитие разнообразнейших элементов из незернистых лейкоцитов лейкоцитарной крови (Авроров и Тимофеевский 1), которые превращались в макрофагов, в гигантские клетки и даже в настоящие веретенообразные соединительно-тканевые клетки. Эпителиальная ткань растет и развивается в культурах из почек, щеточной и других желез (Chamru 14, 15 и 18), из альвеол легкого, кожи и слизистой оболочки мочевого пузыря (Авроров и Тимофеевский 1).

При опытах Lambert'a и Hanes'a (38) наблюдался рост эпителия раковых опухолей крыс, Drew (22) и Uhlenhut (45) получили рост эпителия *in vitro* кожи и почек даже в культурах от взрослой лягушки.

Не наблюдался только рост *in vitro* поперечно-полосатых мышц, что же касается гладких мышц, то они размножаются быстро и в конце концов анаплазируются в простые соединительно-тканевые клетки (Chamru 17).

Мышечные клетки сердца, будучи удалены из сердечной мышцы куриного эмбриона и заключенные в плазму, обладают способностью ритмического сокращения в течение продолжительного времени (8 дней) и продолжают свой рост [Burrows (3)].

Как показал Burrows (3), способностью ритмического сокращения обладает не весь кусок сердечной мышцы, пересаженный в плазму, так и отдельные мышечные клетки, выросшие из него. Кусочки из более взрослых эмбрионов не сокращаются целиком во всей своей массе, но клетки, выселившиеся из этих кусочков, ясно сокращаются и продолжительное время.

Авторы, работающие над выращиванием нервной ткани, получили несомненный рост нервных элементов (Marinesco и Minea, Ingebristen). Harrison, творец этого метода, начал именно с выращивания нервной ткани, на его глазах из протоплазмы невробластов вытягивались нервные нити, образовывавшие осевые цилиндры. Специфической окраской была доказана принадлежность этих нитей к нервной ткани.

Burrows M (3) изучал образование нервных элементов уже на культурах из теплокровных животных, а именно из куриных зародышей 60 часов инкубации

акого возраста эмбрионы брались в виду того соображения, что у них периферические нервы были уже сформированы (по Held'y). Посев производился в плазму крови цыпленка + 0,1% раствор sodium oxalate. Наибольшей активностью в культурах обладали нервные элементы и мезенхима, наименьшей — мышечные клетки. Из 47 культур, взятых из 1/2 нервной трубки зародыша, ни в одном случае не было видно развития попавших в культуру мышечных клеток, в 23 культурах было развитие нервных волокон и во всех 47 культурах наблюдалось развитие соединительной ткани. Начало активности роста Biggows замечают между 2—12 часами не позже 24-х часов — это все рост мезенхимы, нервная же ткань начинала рост между 2 и 6 днем после трансплантации, при чем этот рост длился до 6—8 дней и лишь в очень немногих культурах до 12 дней. Нервные волокна выросшие в культуре куриного эмбриона, были различной величины: от очень тоненьких нитечек, до грубых веревкообразных отростков. Тоненькие нити состояли из гомогенной глянцевовидной протоплазмы, тогда как более толстые пучки показывали продольную исчерченность. Некоторые из волокон заканчивались разветвлением из более нежных тонких веточек. На каждом кончике нити находилось характерное утолщение круглой или овальной формы, обладающее способностью к амебoidalному движению путем медленного выпуска псевдоподий. Рост совершался путем продолжения и утолщения псевдоподий. Время роста этих нитей было ограничено сроком от 49 до 72 часов, скорость роста происходила в минуту, при чем волокно достигало длины 1—2 миллиметра. Активность проявлялась на окончании волокна и выражалась в постоянном выпуске новой формации псевдоподий. Дегенерация выросших нервов, состоявшая в развитии на 4-й день роста узловатостей и фрагментаций, наблюдалась только в 2% всех случаев. Общий конец выражался в сокращении нити после прекращения активного движения. Наступало быстрое уворочение нити, которое начиналось на окончании ее периодическими утолщениями, пока все волокно не оказывалось втянутым в ткань, как псевдоподия амобы.

Нервное происхождение этих нитей было доказано специфической окраской Watson у Cajala, Held'a. Серебро, окрашивая задний план из волокон фибрина, затемняло картину нервных нитей; нервофибрилла в отдельных пучках окрашивались хорошо. Работа Biggows'a, снабженная великолепными фотографиями и рисунками, является особенно ценной, почему мы и позволили привести ее in extenso. Заслуживает быть отмеченной работа Ingebridsten'a, который получил рост нервной нити из головного мозга морской свинки. Выросшая нить, имевшая пуговчатое утолщение на конце, достигала значительных размеров и хорошо инпрегнировалась серебром, чем было доказано ее нервное происхождение.

Все авторы, работающие с культурами нервной ткани, отмечают ту чувствительность к раздражению, которою нервная ткань обладает особенно в сильной степени. Элементы нервной ткани, обладая тонким и нежным строением, чрезвы-

чайно чувствительны к тем грубым манипуляциям, к которым мы прибегаем при производстве пересева кусочка органа в кровяную плазму. Сдавливание, ущемление, влияние света, низкой температуры—все это отзывается чрезвычайно вредно на жизнеспособности удаленной из центрального органа нервной ткани, вызывая развитие шока и смерти. Приходится пользоваться всеми способами, которые могут только ослабить влияние всех этих перечисленных выше вредных моментов. Экстирпация кусочков должна совершаться при помощи идеально острых инструментов, сами кусочки во все время манипулирования не должны находиться на открытом воздухе, а пребывать в теплом Ringer'овском растворе, вся манипуляция удаления кусочка из органа и заделка его в плазму должна совершаться в минимальный срок времени, который нужно исчислять секундами. Чем быстрее произведен пассаж, тем жизнеспособнее культура.

Вторым торчазом в деле получения жизнеспособных культур нервной ткани является трудность отделения ее от соединительной ткани, которая, обильно пронизывая ц. н. с., напр. сопровождая сосуды, попадая в культуру, как более стойкая и малотребовательная ткань, дает обильный рост, заглушая подобно сорной траве рост не так энергично растущей нервной ткани. Чтобы бороться с этим обстоятельством необходимо для пассажа брать минимальные кусочки ц. н. с., стараясь их развить еще больше в самой капле плазмы, разбрасывая по всей капле эти микроскопические кусочки; в таком случае всегда можно было встретить отдельные кусочки, лишенные мезодермальных элементов.

Кроме того в наших культурах обычно латентный период роста нервных элементов бывал обычно короче латентного периода роста соединительной ткани и нервная ткань успевала дать рост в то время, когда мезодермальные элементы пребывали еще в латентном периоде.

Не могу не указать здесь на разногласие наших данных с M. Bigtows'ом (4), у которого рост нервной ткани начинался между 2 и 6 м днем трансплантации, тогда как соединительная ткань уже пробуждалась в активности между 2-м и 12-ю часами. Быть может это разногласие обусловлено различием того материала с которым работали мы и M. В.; в то время как Bigtows делал пассажи из куриного зародыша, наши культуры брались из ц. н. с. молодых кроликов и кроличьих зародышей уже хорошо сформированных.

К ряду препятствий, тормозящих получение хороших культур, относится еще то ферментативное действие нервной ткани на фибрин, которое выражается в его расщеплении, разжижении. Уже очень часто на 3—4-ый день наступает разжижение плазмы и кусочек нервной ткани с выросшими из него вновь образованными нитями и элементами оказывается во взвешенном состоянии в части разжиженной плазмы. Попытки фиксации такой культуры очень часто заканчиваются неудачей, происходит разрушение тех тоненьких вновь образованных нитей, которыми подерживается кусочек с неразжиженной частью плазмы. Фиксирующая жидкость в

силу поверхностного натяжения отрывает такой кусочек от его места и все отношения элементов не могут быть зафиксированы. Приходится в таких случаях прибегать к фиксации парами осмия или парами формола. Вот тот ряд главных препятствий, с которыми приходится встречаться при культуре нервной ткани и с которыми приходится бороться теми или иными мерами. Тем не менее эти препятствия не оказываются настолько значительными, чтобы задерживать совершенно развитие вновь посаженных нервных элементов.

Как мы это увидим ниже, с несомненной очевидностью можно наблюдать жизненные проявления и рост нервной ткани, удаленной из организма и поставленной в условия нашего опыта.

ГЛАВА II.

Методика.

Успех получения культуры ткани вне организма находится в тесной зависимости от методики. Прежде всего весь процесс пересадки ткани в питательную среду должен совершаться в совершенно обособленном и приспособленном помещении. Самая строгая стерильность окружающего воздуха, растворов и инструментария—необходимое основание успешности пересадки.

Организация всей процедуры должна быть такова, чтобы для ее выполнения потребовался бы минимум времени.

Наши пересадки ткани мы производили в специальной операционной, насыщенной водяным паром, стены и потолок которой были орошены предварительно водой.

Плазма бралась из сонной артерии предварительно отсепарованной, поверхность которой смазывалась стерильным маслом. Под изолированную артерию подводилась полоска марли, пропитанная горячим парафином, осторожно парафинировались и наружные стенки сосуда. В сонную артерию вводилась промасленная канюля, соединенная промасленной же резиновой трубкой с центрифугальным парафинированным стаканчиком, устроенным по Лондону (44).

На артерию надевались две лигатуры, одна—на центральном конце—прижимала стенки артерии к канюле, другая—на периферическом конце—заставлялась наглухо. Кровь через канюлю по резиновой трубке поступала в охлажденные до 0° центрифугальные стаканчики, которые затем, окруженные мелким льдом, центрифугировались на сильной электрической центрифуге.

Через пять минут все форменные элементы были в осадке, над которым получался слой кровяной плазмы желтоватого цвета. Плазму мы насасывали парафинированной пипеткой и сливали в парафинированный же сосудик, помещенный

в замораживающую смесь. Когда плазма была готова, приступали к приготовлению культур. Заранее уже было приготовлено достаточное количество чашек Petri, выложенных для чистоты пропускной бумагой; в чашки были положены большие объективные стекла с вышлифованными в них углублениями для висючек капли, рядом с каждым стеклом лежало покровное стекло такого размера, что оно покрывало все вышлифованное углубление. Кругом вышлифованного углубления намазан был обесцвоченный вазелин. Все эти камеры в чашках Petri, конечно, предварительно стерилизовались.

После того, как у животного асептично был вычут мозг, кусочек мозга быстро переносился в большую Koch'овскую чашку с теплым раствором Ringer'a и в этой жидкости быстро расщеплялся острыми ножницами. В это самое время помощник, оттаив в руках замерзшую плазму, парафинированной вилочкой наносил каплю на покровное стекло, лежащее в чашке Petri и передавал ее, закрывши верхней крышкой.

Приподняв снова крышку, мы, захвативши щипцами минимальный кусочек, переносили его быстро в каплю плазмы, которая при этом свертывалась и крепко держала в петлях фибрина пересаженный кусочек. Мы не видели преимуществ от изменения этого способа посадки, которое рекомендуют некоторые авторы; а именно помещать сначала кусочек на покровное стекло, а затем уже покрывать его каплей плазмы. При нашем способе кусочек ткани погружается в плазму и таким образом оказывается охваченным плазмой со всех сторон. При другом же способе кусочек одной своей стороной тесно прилегает к стеклу и с этой стороны лишается питательной плазмы. Перевернув затем осторожно покровное стекло, мы выкладывали его на объективное стекло над вышлифованным углублением и края обмазывали расплавленным парафином. Затем чашки Petri помещались в термостат при температуре 38-39° С. На чашках отмечался день и час посева, номер пассажа римскими цифрами и номер культуры арабскими цифрами.

Вначале мы делали посевы и на рекомендованных авторами часовых стеклах, но скоро оставляли их в виду того обстоятельства, что культуры на часовых стеклах нельзя наблюдать в живом состоянии под микроскопом с большим увеличением. Что же касается до культур на покровных стеклах толщиной 0,14 то их можно было великолепно наблюдать живыми под микроскопом с объективом G Zeiss'a. Все рисунки живых культур в тексте сделаны с тех картин, которые видны при применении сухого адохромата 8 mm. Zeiss'a и сильного компенсационного окуляра.

Наблюдение живых культур производилось в Nuttall'евском термостате, куда был помещен целиком весь микроскоп.

Таким образом во все время наблюдения культуры оставались в нагретой атмосфере термостата, в постоянной температуре, подвергаясь при производстве наблюдения только вредному влиянию света. Больше удобства представляет приготовление культур на покровных стеклах и для фиксации препаратов; процедура-

чрезвычайно трудная и сложная, при производстве которой, несмотря на все предосторожности, гибнут иногда очень ценные культуры. Имея большое количество жизнеспособных культур, мы старались все их фиксировать, подвергая фиксации все периоды роста тканей, начиная от ее первого обнаружения активности, до периода ее угасания. В некоторых случаях, когда кусочек был особенно мал, мы фиксировали культуру целиком на покровном стекле в жидкости Сагпоу:

Вр. Абсолютный алкоголь	6 0
хлороформ	3.0
Лед. уксусная к-та	1.0

Приготовленная ex tempore жидкость Сагпоу наливалась в небольшую чашку, на дно которой опускалось несколько кусочков разбитого предметного стекла. Покровное стеклышко с культурой освобождалось от парафина, осторожно подымалось от предметного стекла и погружалось плашмя каплей плазмы вниз в чашечку с фиксирующей смесью.

Края покровного стекла ложились на разбитое предметное стекло и таким образом, нежная культура не касаясь дна чашечки фиксировались в течение 10 минут.

По мере тщательной промывки в воде покровное стекло с культурой провонюлось через спирты нисходящей крепости и окрашивалось слабым раствором De-lafield-овского гематоксилина. Препараты, приготовленные таким образом, ясно обнаруживали характер вновь образованных элементов и их взаимоотношение. Не довольствуясь такими препаратами, мы в большинстве случаев прибегали к серии срезов зафиксированной культуры, что было необходимо для изучения тех изменений, которые происходили в самом кусочке ткани, а также для выяснения взаимоотношения между выросшими элементами и материнским куском.

Фиксация для этой цели производилась следующими способами:

А. Уплотнение в жидкости Zenker-Formol.

1. Покровное стеклышко с культурой опускалось осторожно на поверхность подогретой жидкости Zenker'a и, плавая в ней каплей книзу, фиксировалась в течение 15 минут;
2. Промывание в дистиллированной воде;
3. Проведение через водистые спирты, возрастающей крепости, до абсолютного алкоголя включительно;
4. Пропитывание жидким целлоидином;
5. Пропитывание густым целлоидином;
6. Из густого целлоидина стекло вместе с культурой заливалось целлоидином в формочке, имеющей вид кольца, поставленной на стекло, охватывая возвы-

шающуюся зафиксированную каплю с культурой. Застывание целлондина усилилось хлороформом; затем вся культура срезывалась от руки со стекла бритвой, смоченной спиртом. При этой процедуре необходимо бритву вести плашмя по самой поверхности стекла, снимая с его поверхности без остатка всю зафиксированную и уплотненную каплю плазмы. Укрепив затем срезанную культуру на пробке мы резали ее обычным способом на санном микротоме, претворяя при этом последовательны серии срезов по методу Рубашкина-Аничкова.

Срезы затем окрашивались, после освобождения от целлондина, эозинном и Азуром II. Этот метод срезывания бритвой зафиксированной культуры мы позаимствовали из лаборатории проф. А. А. Максимова и он оказал нам большие услуги.

В. Уплотнение культур со стеклом в 10% формалине (resp. 4%).

Уплотнение в формалине имело своей целью дать возможность импрегнировать серебром культуру нервной ткани.

Фиксация и уплотнение производилось точно также на покровном стекле в течение 12—24 часов. Затем покровное стекло с культурой поступало в 2% раствор $AgNO_3$ на сутки, после чего подвергалось обработке аммиачным серебром по методу Bielschowsky'аго. После обезвоживания в спиртах, покровное стекло вынималось из абсолютного алкоголя и вся культура бритвой срезывалась со стекла; срезанный кусочек затем поступал в ксилол, расплавленный парафин, заливался в парафин и разлагался на последовательные серии срезов, которые затем наклеивались на предметные стекла, освобождались от парафина и залезывались в канадский балзам. Такой метод окраски культуры целиком дал нам лучшие картины импрегнированных серебром нервных элементов. Ни метод Рашоп-у-Кажал'я, ни метод Рахиянова, ни метод Donaggio, не дали нам хороших, ясных картин.

В. Уплотнение в 96° спирте.

Культуры вместе с покровными стеклами погружались в 96° алкоголь, затем срезывались после уплотнения бритвой с покровного стекла, заливались в целлондин и окрашивались по методу Nissl'я.

Г. Уплотнение в парах осмия и окрашивание гематооксилином.

Наблюдение живых культур оказалось вполне возможным и дало много ценных указаний. Под микроскопом при наблюдении живой ткани великолепно были видны клетки с многочисленными зернами внутри их. Отчетливо были видны яд-

ра и в них здрьшки. Можно было наблюдать изменение ядра, его деление, пролиферацию различных элементов, движение амебодитов, движение плазмы внутри клеток и т. д.

К сожалению, непрерывное наблюдение культуры, соединенное с сильным освещением ее, не могло долго продолжаться, т. к. свет оказывал задерживающее, угнетающее влияние на жизненную функцию ткани, поэтому нужно было ограничиваться кратковременным наблюдением.

Нам остается еще сказать несколько слов о пересадке нервной ткани. Несмотря на наши многочисленные попытки получить дальнейшее развитие нервной ткани путем ее посева в новую плазму, достичь утешительных результатов пока нам не удалось.

Рост пересаженных культур задерживался, быть может, обильным ростом соединительной ткани и амебодитов, переживание и новое появление которых было постоянным явлением в пересаженных культурах.

Для получения культур нервной ткани мы пользовались исключительно кроликами, у которых для посевов ткани в плазму вырезывались кусочки из коры головного мозга и мозжечка. Выбор кроликов отчасти объясняется и тем обстоятельством, что кровяная плазма кролика представляет больше удобств для техники приготовления культур, так как она довольно медленно свертывается. Одна часть опытов была поставлена на кроличьих зародышах, 6 ст. величиною, уже вполне сформированных, которых мы вынимали из полости матки рассечением брюшных покровов и стенки матки; другая часть опытов была поставлена на молодых, недельных от роду кроликах. В виду того, что картины новообразованной нервной ткани были различны в зависимости от того, от зародыша ли бралась ткань для пересадки или от более взрослого животного, мы вначале опишем рост тех элементов, которые наблюдались в культурах зародышевой ткани, а потом тех элементов, которые появились в культурах, взятых от зрелого животного.

Нами было произведено 14 пассажей. Считая в среднем по 40 культур на каждый пассаж, мы получим общее число приготовленных нами культур—560.

Конечно, не все эти 560 посевов оказались удачными и жизнеспособными. Одни из них, несмотря на все принятые меры предосторожности, подверглись загрязнению микробами, другие не пережили пассажа и по ибле, третьи, наконец, погибли во время фиксации от дефектов обработки их. Если исключить все эти неудачные культуры, то все же остается значительное число жизнеспособных культур, в описанию которых мы и перейдем.

Все культуры пересматривались несколько раз в день и результаты осмотра заносились в протокол, причем культуры вымершие или загрязненные выбрасывались. Одна часть культур, обнаружившая рост, фиксировалась немедленно с таким расчетом, чтобы были зафиксированы все периоды роста, другая—сохранялась возможно дольше и все изменения зарисовывались и заносились в протокол день за днем.

ГЛАВА III.

Культура нервной ткани, вырезанной из зародыща кролика.

Первые дни после посева в кровяную плазму кусочков, вырезанных из коры головного мозга, наблюдение культур под микроскопом не обнаруживает никаких признаков жизни; наблюдается, так называемый, латентный период. Но уже через 12—15 и 20 часов после посева, наблюдая культуры, мы можем обнаружить в них ряд изменений, несомненно прогрессивного порядка, изменений, свидетельствующих о проявлении какой-то активности, бывшей до того времени в потенциальном состоянии.

Под микроскопом мы видим, что у края кусочка заключенного в плазму, уже на первые сутки после пересадки появляются особые элементы, которые мы назвали хвостатыми клетками. При наблюдении в живом состоянии они представляются нежными резко преломляющими свет образованиями и состоят из ядра и протоплазматического тела, имеющего форму хвостика; все образование чрезвычайно напоминает своим видом сперматозоидов; это сходство усиливается еще тем обстоятельством, что хвостаты клетки обладают способностью к амебодным движениям. По своей форме они представляются чрезвычайно разнообразными; (см. таб. III фиг. II); разнообразно также и их взаимное расположение. Их ядро, как это особенно хорошо можно видеть на фиксированных и окрещенных препаратах, имеет различный вид. То это ядро круглое, резко ограниченное с ядерной мембраной и ядрышками, лежащими внутри (см. фиг II табл. III а), то ядро это приобретает продолговатый вид (табл. III фиг. II б; с, d), то оно делится дольчаткам, с перегородками, то представляется бисеквитообразным (табл. III фиг. II к, N, м), то лопастный вид (табл. III фиг. II, I, H), то, наконец, представляет из себя сочетание из 3-х и более маленьких ядер, образующих нечто подобное лягушачьей икре (табл. III фиг. II L). При наблюдении в живом состоянии ядро можно отличить только по несколько измененному преломлению лучей света, проходящих через место расположения ядра; при этом видно, что плазма облегает своей массой ядро, переходя затем в продолговатый хвост. См. фиг. 14, 15, 16 На фиксированных в спирте (Сагоу) препаратах протоплазма хвостатых клеток несколько сжывается и ядро кажется лежащим совершенно эксцентрично. Протоплазма хвостатых клеток гомогенна; только редко можно было заметить в ней немногочисленные включения, имеющие в живом состоянии вид резко преломляющих свет зерен, чаще таких включений нельзя было обнаружить и протоплазма представляла, как в окрашенной, так и в живом неокрашенном состоянии совершенно гомогенную массу, у бледно окрашиваемую гематоксилином в слабо-розовый цвет. Первоначально тоненький хвостик хвостатой клетки с течением времени подвергается своеобразным изменениям, он делится многообразно, через 3 дня число разветвлений увеличивается, на

протяжении хвостика наблюдаются изгибы (см. фиг. II табл. III а, в) иногда идущие четырёхобразно (d. M. G).

Чрезвычайно характерно для хвостатых клеток их взаимное расположение.

Уже через 22 часа они, появившись в обильном числе вокруг материнского куска, начинают располагаться в особом порядке, а именно — хвосты одних, соединяясь с ядрами других, образуют непрерывные цепи (см. фиг. 9 табл. III), в конце концов получается довольно скоро вокруг материнского куска сетевидное образование, состоящее из перекладки протоплазменных хвостиков хвостатых клеток и из ядер их, то лежащих на протяжении протоплазмённых нитей, то скручивающихся в местах пересечения их (см. фиг. 8 табл. III). Бросается в глаза как раз то особенная склонность хвостатых клеток соединяться между собою своими протоплазменными отростками (фиг. 7 табл. II), вступая таким образом в связь одновременно с несколькими соседними клетками. Особенно хорошо обнаруживается их способность организовывать длинные цепи, как это видно хорошо на фиг. 9 (табл. III). На фиг. 8 (табл. III) видно, как из материнского куска тянутся ряды хвостатых клеток, образующих целые тяжи и сети. В некоторых местах мы наблюдаем большие скопления ядер, между которыми перекнуты тяжи и нити, состоящие из следующих друг за другом хвостатых клеток. Обильное появление этих клеток в первые уже 22 часа свидетельствует о необычайной активности их. Часть их с несомненностью можно проследить выходящими из материнского куска, но многие из них нужно признать появившимися путем амитотического деления; см. фиг. II табл. III о, р, к, н, l, i, где можно видеть различные стадии деления ядра. Как бы то ни было развитие хвостатых клеток идет полным темпом первые три дня, потом начинается их дегенерация, сопровождающаяся зернистым распадом. У таких дегенеративных клеток при наблюдениях в живом состоянии можно видеть появление в плазме крупных капель (жара?), такое дегенеративное состояние хвостатых клеток удается наблюдать до 5-го дня; на 5-й день хвостатые клетки начинают сливаться между собой и в особенные конгломераты, образуя целые скопления и массы, клеточных тел, резко окрашивающихся основными красками. Если в некоторых случаях удается наблюдать выхождение этих элементов из материнского куска, то позднее происходит как бы отодвигание этих элементов от куска. Дело в том, что плазма, куда заключена зародышевая ткань, уже довольно скоро начинает разжижаться, начиная от периферии куска. Хвостатые клетки, организовавшись в описанные выше скопления, отодвигаются все дальше и дальше от куска, часто теряя при этом связь с ним. Они вместе с другими новообразованными элементами, нитями, о которых речь будет идти ниже, организуют как бы совершенно автономное, независимое от материнского куска образование. Непрерывное наблюдение удачной культуры иногда давало впечатление о переходе хвостатых клеток, путем увеличения ядра и числа отростков в клетку, подобную той, которая изображена на табл. II фиг. 4. Эта клетка прок-

сходит на 5-дневной культуре; она имеет чрезвычайно характерный вид, большое число отростков, при чем один из отростков достигает значительной длины, этот отросток представляет по своей оси ряд небольших утолщений. Протоплазма содержит включения в виде капель, не дающих с осмием черного окрашивания. Ядро большое овальное с небольшим числом зернышек внутри. См. также фиг. 24, 25, 26 и 31.

Какое же может быть происхождение этих своеобразных элементов, выступающих с таким постоянством и с такой ярко выраженной характерностью почти во всякой культуре зародышевого мозга.

Их чрезвычайно резко выраженная способность к размножению, их жизнеспособность в культуре, может заставить заподозрить их мезодермальное происхождение.

Имеющиеся у нас наблюдения не дают пока полного и исчерпывающего ответа на вопрос, в составу какой ткани должны быть отнесены эти хвостатые клетки. Тем не менее, как нам кажется, имеется все таки ряд данных, позволяющих усомниться в происхождении этих элементов из соединительной ткани.

Нужно заметить, что одновременно с появлением хвостатых клеток можно в редких случаях наблюдать появление несомненных типичных мезодермальных клеток, имеющих вполне определенную и характерную форму; можно одновременно наблюдать и каркинетические фигуры их. Чаще мезодермальные клетки появляются начиная со 2-х суток. На табл. III фиг. 11, где изображены различные элементы, появившиеся в 22-х часовой культуре зародышевого мозга, рядом с хвостатыми клетками (а, b, c, d и др.) изображены и соединительнотканые клетки (U, Z, T, K); S — каркинез.

Клетки, как T, Z, несомненно мезодермального происхождения и содержат в петлях своей протоплазмы разного рода включения в виде глыбок и зерен. В живом состоянии они представляются набитыми ярко блестящими зернами и каплями — продуктами обмена. (См. фиг. 30).

Различие между хвостатыми клетками и мезодермальными легко установить, как при изучении окрашенных препаратов, так и при наблюдении культур в живом состоянии. Хвостатые клетки не похожи на фибробластов, обычно дающих пышный рост в виде копий, идущих от материнского буска, содержащего элементы соединительной ткани. Нередко в одной и той же культуре можно было наблюдать рядом с хвостатыми клетками типичные фибробласты веретенообразной формы то с мелкими, то с крупными зернами внутри плазмы. На табл. IV (фиг. 13) изображены также фибробласты с имеющимся рядом каркинезом. Кроме фибробластов рядом с хвостатыми клетками встречаются еще и другие формы мезодермальных клеток, имеющих сходство с покоящимися клетками Максимова. Эти элементы изображены на табл. III (фиг. 11, T, Z, B, Y). Отличие их от хвостатых клеток резко бросается в глаза уже при поверхностном изучении окра-

шенных препаратов. Хвостатые клетки появлялись в большом числе и подвергались тем же характерным изменениям, как в тех культурах нервной вещества, где удавалось добиться почти полного отсутствия соединительно-тканых элементов, так и в тех случаях, где имелась соединительная ткань в большом количестве, в форме фибробластов и ир элементов. И нигде ни в одном случае мы не могли наблюдать переходных форм между хвостатыми клетками и мезодермальными элементами.

Возникая рядом на одной и той же почве, хвостатые клетки и мезодермальные клетки во время всей своей непродолжительной совместной жизни развиваются рядом, сохраняя свое первоначальное резкое различие, что может служить косвенным доказательством и совершенно различного их происхождения.

И так важным обстоятельством является типичность хвостатых клеток как в их строении, так и в их взаимоотношении.

Обращает на себя внимание их замечательная способность организовываться линейно правильные образования; иногда получается впечатление, что хвостатые клетки, располагаясь в длину одна за другой, выравниваются как бы по линейке в правильную прямую линию, располагаясь продольной цепью, как это видно на табл. III (фиг. 9). Вначале роста в культуре наблюдается лишь небольшое количество одиночно лежащих хвостатых клеток, одни из них стоят еще у самого края материнского куска, но уже через сутки картина совершенно меняется, вся местность вокруг куска буквально кишит, если можно так выразиться, хвостатыми клетками, они уже эмигрировали далеко от куска и образовали те скопления и переиычки, слабое представление о которых дает рис на таб. II (фиг. 8).

Резюмируя все выше сказанное, нужно признать хвостатые клетки за совершенно особенные элементы, не относящиеся к мезодермальной ткани, возникающие исключительно в зародышевой нервной ткани. Они обладают большой энергией роста и при этом имеют склонность сливаться в конгломераты особой архитектуры, образуя подобие синцития. Продолжительность роста и развитие их доходит до 5 дней, после чего наблюдается прекращение их жизненных функций. В культурах на мозге взрослых животных, равно как и в культурах из других органов, как зародышей, так и взрослых животных, хвостатых клеток мы не наблюдали.

А м е б о ц и т ы.

Обычно уже на вторые сутки в культурах из зародышевой ткани мозга можно было наблюдать небольшие клетки с ясно выраженным амебонидным движением. При наблюдении в живом состоянии видно, как эти клетки, выпуская псевдоподии, меняют свою форму, то они делаются круглыми, то вытускают фестонами псевдоподии и медленно переползают по петлям фибрина. (См. фиг. 17). Нам удавалось наблюдать непосредственное выхождение этих эле-

ток, амёбоцитов, из материнского куска. (См. фиг. 18). Обращает на себя внимание имеющая иногда место связь несомненного амёбоцита с материнским куском при помощи особой длинной ножки—обычно бледной двухконтурной нити. Иногда можно видеть не одну нить, а несколько, образующих как бы перемычки между клеткой и материнским куском. Заслуживает быть отмеченным то обстоятельство, что нередко эти перемычки достигают значительной длины, представляя вздутые на своем протяжении—обстоятельство, делающее эти нити похожими на те нити несомненно верного происхождения, речь о которых будет ниже. (См. фиг. 17).

Амёбоциты оказываются наиболее жизнеспособными и активными элементами культуры зародышевого мозга. На четвертые сутки число их значительно увеличивается; они энергично ползают по сетям фибрина и их движение продолжается до десятого дня. Пересев их в свежую плазму дает им новые жизненные силы: они увеличиваются в числе, протоплазмы их энергично сокращаются; если пересевается в материнский кусок, то можно наблюдать новую энергичную эмиграцию амёбоцитов из материнского куска, которая имеет место и на 8—10 день после посева.

Удавалось путем посева получить несколько поколений амёбоцитов, без того, чтобы они подверглись каким либо изменениям. В конце концов амёбодное движение их протоплазмы замирает, в протоплазме появляются зерна и капли и клетка погибает, зернисто распадаясь.

Появление амёбоцитов было характерно для культур мозга из зародыша. Они появлялись также в культурах и взрослых животных, но в культурах, взятых не из вещества центральной нервной системы, а из других органов, как из селезенки и печени. В культурах из мозга взрослого животного амёбоцитов не наблюдалось. Хвостатые клетки и амёбоциты развивались исключительно в культурах из коры головного мозга зародыша, в культурах коры головного мозга взрослых животных их не наблюдалось. В появлении этих, выше описанных элементов и заключалась существенная разница между культурами из ц. н. с. зародыша и взрослого животного. Что же касается до других элементов, развивающихся в культурах нервной ткани о которых речь будет идти ниже, то никакой разницы между зародышем и взрослым животным не наблюдалось. Поэтому в дальнейшем изложении мы будем описывать в одном месте рост культур нервной ткани как от зародыша, так и от взрослого животного.

ГЛАВА IV.

Нервные волокна.

Уже на первые сутки после пассажа нервной ткани герп. коры головного мозга можно было заметить в большинстве культур выростание из материнского куска гомогенных длинных нитей. Их калибр и морфологические отношения не были

вполне однородными. Одни нити были очень тонки, другие же — толсты и являлись, собственно, не нитями, а трубчатыми волокнами.

Мы начнем описание с самых тоненьких нитей, морфология которых отличается наибольшей простотой.

При наблюдении в живом состоянии суточной культуры мозга можно было видеть, как из материнского куска, заключенного в плазму, тянулись тоненькие нити, опираясь на сеть фибрина, с пуговчатым утолщением на конце. Эти нити обладали еле заметным амебоидным движением, штопорообразно извивались и удлинялись путем отодвигания от куска пуговчатого утолщения. (См. фиг. 19).

Другие нити, еще более тонкие, пучками отходили от края материнского куска и через несколько дней достигали значительной длины. На фиг. 2 табл. I, где изображена пятидневная культура зародышевого мозга, виден целый пучок тоненьких гомогенных нитей (f), уходящих далеко от куска. Одни из этих нитей на своем пути как бы собирались у скопления клеточных элементов (a), после чего опять выходили оттуда и, пройдя еще некоторое пространство, в виде гладких, не ветвящихся нитей, истончались и, дихотомически ветвясь, терялись в петлях фибрина.

Некоторые из этих нитей заходили очень далеко, сохраняя на всем своем протяжении один и тот же калибр и внешний вид. В живом неограшенном состоянии эти нити представлялись блестящими, резко преломляющими свет, линейно тянущимися нитями, одного и того же калибра на всем протяжении безо всяких узловатостей и расширений; только на своем конце они как бы несколько припухали, но тотчас же начинали делиться на более тонкие веточки, быстро сливающиеся с сетью фибрина (См. фиг. 29). Рядом с этими тоненькими нитями, одновременно в тех же самых культурах выросли нити и более крупного калибра (см. табл. I, фиг. 2 G), развитие которых совершалось следующим образом.

Вначале из периферии материнского куска показывалось коротенькое гомогенное волокно, видом своим напоминающее гиадиновый цилиндр, с резко преломляющими свет двухконтурными стенками с булавовидным утолщением на конце. Иногда можно было заметить на протяжении этого волокна — нити небольшое вздутие. У такого волокна можно было наблюдать слабое, еле уловимое амебоидное движение и медленное неуклонное увеличение длины путем вытягивания его тела, остающегося все время в связи с материнским куском. (См. фиг. 20, 21).

И так, сравнивая между собой стадии роста тех волокон, которые вновь образуются в культуре нервной ткани, мы легко можем представить себе последовательный ход этого роста.

Вначале тянется из куска небольшая нить с булавовидным утолщением. Она обладает активностью и довольно быстро принимает вид волокна с канальцем посередине и резко преломляющими свет стенками; оканчивается это волокно колбообразным вздутием. Вытягиваясь в длину все дальше и дальше, волокно начинает

расширяться в ограниченных участках, образуя узловатые вздутия, придающие волокну особенно характерный вид. Эти вздутия образуются постепенно по мере удлинения волокна (См. фиг. 22)

Изучение живых культур, продуцирующих эти волокна, к сожалению, затруднялось тем обстоятельством, что свет, повидимому, губительно действовал на эти в высшей степени нежные образования, чувствительные ко всякого рода раздражениям. Примером такого влияния может служить следующее: заметив в одной из суточных культур из коры мозжечка молодого кролика вновь растущее, уже сформированное волокно, мы решили его подвергнуть непрерывному наблюдению под микроскопом, помещенном, конечно, в особый термостат. Во все время наблюдения на культуру падал яркий свет от ауэровской газовой горелки.

В начале наблюдения это волокно имело вид трубки с двухконтурными резко преломляющими свет стенками и матового цвета сердцевидной. Это волокно вытягивалось медленным амебодным движением, стенки его казалось меняли свою толщину, то утолщались, то уменьшались, ствол волокна менял свою конфигурацию, то его толщина в одном месте уменьшалась, получалась небольшая перетяжка, то увеличивалась — получалось вздутие; движение это носило характер перистальтического. Через 5 минут мы уже могли заметить ослабление амебодного движения, оно почти совершенно угасло. Положение самого волокна изменилось, оно перестало тянуться в сторону от материнского куска, стало спадаться, просвет его съежился до того, что в некоторых участках стенки соприкасались друг с другом и матовой сердцевины заметить уже нельзя было. Через 10 минут после начала наблюдения, волокна окончательно съежилось согнулось спирально и скоро исчезло без следа. См. фиг. 23. Пример этот говорит за большую чувствительность вновь растущих волокон, поэтому просматривать культуры в живом состоянии нужно возможно быстрее, не подвергая их долгому действию света, сейчас же затемняя поле зрения.

Вышеописанными формами вновь растущих нитей и волокон, выходящих из резецированного куска ц. н. с., не исчерпывается все разнообразие растущих волокон. Встречаются волокна обладающие некоторыми особенностями, отличающими их от всех других.

В некоторых культурах можно было видеть обильный рост волокон, отличавшихся крупным калибром; они резко преломляли свет, но концевых утолщений и колб у них нельзя было наблюдать. Эти волокна уже довольно скоро начинали ветвиться, вступая в сообщение между собой (см. табл. I фиг. 1). Следующим характерным свойством этих волокон было присутствие ядер тесно прилежавших к их стенкам. На рис. 1 (табл. I), где изображена пяти-дневная культура головного мозга зародыша, отчетливо видны эти довольно крупного калибра волокна, тяжами отходящая от периферии материнского куска; подобные волокна видны и на фиг. 2 табл. I (F). Материнский кусок культуры в виду раннего наступ-

ления разжижения плазмы вокруг него был фиксирован на месте. исключительно этими волокнами, протягивающимися от периферии куска к обружности еще не разжижившагося фибрина.

Появление таких волокон с ядрами наблюдалось исключительно в культурах из мозга зародыша.

Кроме таких нитей и волокон, находившихся в непрерывной связи с материнским куском, своим началом скрываясь в пересаженном кусочке ц. н. с., мы могли наблюдать волокна, лежащая более изолированно и имеющие несомненное начало от клетки.

Можно наблюдать клетки имеющие веретенообразную форму, при чем один из концов веретена бывает вытянут на значительное протяжение в виде волокончатого отростка. Этот отросток состоит из стенок резко преломляющих свет и внутреннего канальца-сердцевины, имеющей более матовый цвет. Такой отросток по своему длиннику образует ряд перетяжек и вздутий. Ядро такой клетки невелико и лежит в центре клетки. Протоплазма при наблюдении в живом состоянии наполнена включениями, состоящими из мельчайших резко преломляющих свет зернышек. Эти включения имеются исключительно в плазме клетки возле ядра и в отросток ее не переходят. Все эти клеточные формы с отростками появлялись обычно на 2, 3 день пассажа. См. фиг. 24, 25 и 26.

Заслуживает быть отмеченным особо связь этих клеточных элементов с материнским куском. Как мы видели выше эта связь осуществляется непосредственным участием нервных волокон. Иногда можно было наблюдать установление связи между материнским куском и напр. амебоцитами; См. фиг. 27, иногда устанавливалась связь между куском и клеткой несомненно мезодермального происхождения. См. фиг. 27. В общем получается такое впечатление, будто бы растущие нервные нити имеют какое то тяготение, притяжение к клеточным элементам независимо от генезиса последних, будут ли они мезодермального или иного происхождения. В некоторых случаях, когда имеется вдали от материнского куска скопления клеточных элементов, вырастающие нервные нити имеют тяготение к этим клеточным скоплениям. Вопрос этот нуждается еще в дальнейшем изучении, имеющихся у нас фактических данных недостаточно для окончательного решения вопроса о том, существует ли действительно притяжение клеточными элементами растущих нервных волокон или же мы имеем здесь дело со случайным совпадением.

Изучение в культурах нервной ткани вновь образованных волокон не могло, конечно, ограничиться их наблюдением только в живом состоянии и нами были приготовлены серебрянные препараты тех культур, где в живом состоянии можно было констатировать наличие и рост волокон.

Наилучшие результаты дал нам метод Bielschowsky'аго. Импрегнирование культур серебром, где импрегнация подвергаются и нити фибрина, имеющегося в культуре в виде хорошо выраженной сети, сопряжено с большими неудобствами,

так как поле зрения оказывается часто сплошь импрегнированным и на таком общем фоне нервные нити ускользают от наблюдения.

Метод Bielschowsky'аго дал наилучшие результаты; при нем нити фибрина оказывались окрашенными в слабый желтоватый цвет и нервные нити, окрашенные в резкий черный свет, ярко выступали на общей картине.

На табл. II фиг. 5 и 6 изображены нервные нити в 22-х часовой культуре зародышевого мозга. При наблюдении в живом состоянии они имели вид гомогенной тонкой нити.

Т. е. рисунок 5 (табл. II) представляет парафиновый срез в 3 μ толщиной, то некоторые нити не попали полностью в плоскость среза и имеют вид будто бы прерывающихся. И здесь на препаратах, уплотненных в формоле и обработанных в спирте, мы видим тонкие нити с веретенообразными утолщениями на своем протяжении и с булаво-видным утолщением на конце. От витей, зарисованных в живом состоянии, они отличаются только тем, что оказываются более извилистыми, что быть может обусловлено фиксирующим влиянием формола.

Картины импрегнированных серебром волокон, выросших в культурах из нервной ткани чрезвычайно, до тождества, напоминают те вновь образующиеся нервные волокна, которые появляются на протяжении дегенеративного нерва при невритах.

Высказывалось предположение, что эти утолщения и узловатости искусственного происхождения, вызванные условиями фиксации и обработки или результатом посмертного изменения ткани. Такое предположение выше проведенными фактами может считаться вполне опровергнутым, т. е. растущая нервная нить и в живом состоянии дает приблизительно эквивалентную картину ее серебрянного препарата. Можно пожалуй говорить еще о том, не является ли такое строение волокон свидетельством дегенеративного их состояния, по крайней мере Виглоу высказывается в таком именно смысле. Ответить окончательно на этот вопрос мы в настоящее время еще не можем в виду недостаточности фактического материала, пока мы можем только сказать, что рядом с узловатыми волокнами встречаются в культурах волокна без таковых утолщений, идущие гомогенными равно-калиберными трубками. Кроме того узловатые нити часто встречались уже в первые часы роста и в 22-х, 24 часовых культурах, когда трудно еще было ожидать явлений дегенерации.

Чем обусловлено разнообразие морфологии всех волокон, вырастающих в культурах нервной ткани, в настоящее время мы еще решить не можем. Возможно, что мы имеем перед собою элементы имеющие различный генезис; быть может одни из волокон обязаны своим происхождением глиозной ткани, другие — специально функционирующей нервной ткани и, наконец, вполне возможно предположение, что и дегенеративные изменения ткани вызывают то или другое изменение в строении и морфологии вновь растущих элементов. Наконец может иметь значение характер и строение фибриновой сети, а также условие питания культуры.

Положительный эффект импрегнирования серебром служит прямым доказательством нервного происхождения нитей и волокон, вырастающих в культурах нервной

ткани. Задачей дальнейшего исследования будет выяснить более точно источник происхождения этих волокон, являются ли они глиозными элементами или же принадлежат к фибриллярному аппарату. Получить препараты неврофибриллы в растущих волокнах нам к сожалению не удалось. При наблюдении в живом состоянии иногда получалось такое впечатление, что внутри растущего волокна будто бы были заметны тончайшие палочки располагающиеся продольно по оси волокна. Мы наблюдали в живом состоянии волокно, внутри которого можно было заметить продольно расположенные тончайшие палочки и зерна, образующие подобие цепочки, эти цепочки, выходили из самого дистального конца волокна. (См. фиг. 29). Их можно было рассмотреть благодаря более резкому преломлению ими света. Является вопрос, не будут ли эти образования митохондриями нервного волокна, расположенные в строго продольном направлении.

Таким образом в культурах нервной ткани наблюдается энергичный рост нервных волокон. Они или вырастают из материнского куска, или являются продолжением изолированно-лежащих клеточных элементов.

Нервные волокна вырастающие из материнского куска в морфологическом отношении оказываются чрезвычайно разнообразными. Одни из них чрезвычайно тонки, уходят далеко от материнского куска, пробегая тонкими блестящими, резко преломляющими свет нитями с древовидными разветвлениями на конце, другие более крупны, имеют двуконтурные стенки и ясно заметную сердцевину; на своем протяжении этот род волокон не сохраняет один и тот же калибр, а имеет ряд вздутий и заканчивается колбообразным утолщением. (См. фиг. 21, 22). Калибр таких нитей различен и подвержен изменениям в течение роста. Третьи — отличающиеся значительностью калибра — дихотомически ветвятся, образуют сплетения и оказываются в тесной связи с ядрами.

За исключением последних волокон, встречающихся только в зародышевой ткани мозга, все остальные волокна наблюдались в культурах и зародышевого и взрослого мозга. Различие в морфологическом отношении не зависело от того, был ли взят для культуры мозг зародыша или мозг взрослого животного. Скорее это различие было обусловлено с одной стороны характером, генезисом самих растущих волокон, а с другой стороны — характером той среды, в которой имел место рост и развитие волокон. Свертывание плазмы, архитектура фибриновой сети, которая может образовывать то более, то менее густую сеть, свойство самих фибриновых волокон, имеющих не всегда одни и те же свойства, все это может оказывать влияние на растущие волокна, вызывая те или иные изменения их. Вопрос о том, следует ли считать все вышеописанные волокна происшедшими из элементов нервной ткани — нервными волокнами, разрешается в положительном смысле. За это говорит весь ход развития этих волокон, их своеобразные морфологические особенности и, наконец, способность их, импрегнируясь серебром, давать характерные гистологические картины нервных волокон.

ГЛАВА V.

Соединительная ткань.

Рост соединительной ткани наблюдался очень часто в культурах из нервной системы, как у зародышей, так и у взрослых животных. Рост этот, если он имел место, всегда приобретал значительные размеры и отмечался в протоколах как пышный рост. Как общее правило почти для всех наших культур рост соединительной ткани чаще всего начинался на второй день пассажа и продолжался до 8—10 дня. В тех случаях, когда в культуру попадали кусочки оболочек мозга можно было наблюдать резкое и значительное развитие веретенообразных клеток: они давали обильный и пышный рост, тянулись копыями и тяжами от материнского куска, уходя на далекое пространство в сторону. Клетки эти представлялись в живом состоянии веретенообразной формы с большим количеством разного рода включений, то это были довольно крупные зерна, имевшие вид жировых капелек, то это была мелкая пылеподобная зернистость. Изучение этих элементов в живом состоянии, особенно было поучительно. Обращало на себя внимание постоянное присутствие зернистости и, очень часто, особенно характерное расположение этих зерен. В некоторых клетках мы могли наблюдать чрезвычайно правильное расположение этих зерен, они шли правильными четкообразными рядами, образуя цепочки или четки. (См. фиг. 30). Изучение неокрашенных соединительно-тканых клеток в состоянии их жизнедеятельности может дать ценные указания на строение и физиологические функции протоплазмы этих клеток. Наблюдая непрерывно состояние таких клеток и изменение их протоплазмы мы могли быть свидетелями процессов карокинеза, процессов, которые потом могли быть зафиксированы и доказаны окрашиванием препарата. Явление карокинеза при росте соединительной ткани можно было обнаружить уже в самом начале роста соединительной ткани (табл. IV° фиг. 12 и 13) на вторые сутки пассажа. Карокинетические фигуры можно было наблюдать и в живом состоянии. Кроме карокинезов можно было наблюдать следующие способы образования новых клеток.

На протяжении отростка клетки постепенно образовывалось вздутие, происходило появление мельчайших зерен; вздутие увеличивалось все больше и больше, количество зерен также возрастало, и появлялось веретенообразное образование, наполненное зернышками, которые, окружая безцветное круглое тельце, имели вид обычной клетки. (См. фиг. 30.) Окрашивание таких препаратов давало картину несомненных клеток с ясно выраженным ядром. Таким образом в данном случае мы имеем дело с каким то особенным способом размножения клеточных элементов не путем деления предсуществующих клеток, а путем нового образования из волокнистого вещества. О подобном способе имеются уже сообщения в литературе. Так Grawitz (24) и его ученики Growtz, Schlaefke и Uhling (25) наблюдали новообразование клеточных элементов из волокнистого промежуточного вещества.

Соединительно тканые клетки, обнаружившие пышный рост, после фиксации и окрашивания представлялись клетками с большим ядром, содержащим внутри несколько ядрышек. Эти ядра овально-продолговатой формы иногда достигали значительных размеров. Ядерная мембрана их была хорошо выражена, хроматин в виде небольших зернышек и нитей был распределен в небольшом количестве (табл. IV^а фиг. 13). Ядра клеток вступавших в фазу карокинеза приобретали правильную круглую форму и хроматин распределялся по всему ядру равномерно; в дальнейшем появлялись хроматиновые нити, сначала клубок их, а затем происходило деление хроматина и деление всей клетки.

Протоплазма этого вида клеток на фиксированных препаратах оказывалась несколько сжатой, тех красивых конгломератов зерен, которые отчетливо были видны в живом состоянии, обнаружить уже нельзя было и вся протоплазма оказалась равномерно окрашенной. Рядом с описанными фибробластами можно было наблюдать клетки с небольшим круглым ядром, богатым хроматином и небольшим количеством протоплазмы лежащей вокруг ядра (табл. IV^а фиг. 13 w z). В противоположность фибробластам, выростающим из материнского куска тяжами и образующих целые сплетения, клетки последнего вида встречаются изолированно; в живом состоянии они оказываются содержащими в плазме многочисленные зернышки, которые растворяются и исчезают при обработке спиртом. После фиксации протоплазма оказывается сетчатого строения и в некоторых случаях содержит глыбки продуктов обмена, резко окрашивающиеся основными анилиновыми красками (табл. III фиг. II, у k, T, Z и R). Роль этих клеток по видимому очистительная, они являются клетками мусорщиками, очищающими ткань от продуктов обмена. Говоря об этих элементах мы подходим к вопросу о нахождении в культурах и кровяных элементов, попадающих сюда вместе с остатками сосудов. Действительно иногда можно было видеть несомненных лимфоцитов (табл. III фиг. 10), остающихся без изменений в одном и том же состоянии до 8—9 дней.

ГЛАВА VI.

Общая картина развития различных элементов в культурах мозга.

1. Последовательный рост элементов ткани в культуре из мозга зародыша.

После латентного периода, продолжительность которого колеблется между 15--20 часами, из материнского куска на первые сутки начинают показываться тоненькие гомогенные нити с утолщениями на конце. (См. фиг. 19 и 20). Эти нити уже очень скоро достигают значительной длины и при импрегнации серебром показывают характерное строение (табл. II фиг. 5). Одновременно с появлением этих нитей показы-

вается у периферии куска большое количество «хвостатых» клеток, причем многие из них имеют еще связь с куском. На вторые сутки гомогенные нити продолжают свой рост, дают разветвление, иногда вступают в связь со скоплениями клеточных элементов. Некоторые из нитей несут на своем дистальном конце булавовидное утолщение. Что касается до хвостатых клеток, то число их увеличивается. Протоплазма их—хвостик—начинает ветвиться. (См фиг. 14). Расположенные в первые дни своего появления вблизи от материнского куска, они теперь отодвигаются дальше от него, образуя сплетения (таб. III фиг. 8 и 9), подобные кружеву. Вдали от куска можно видеть иногда небольшие клетки с многочисленными бледными гомогенными отростками, при чем иногда отросток такой клетки доходит до материнского куска, сливаясь с ним и теряясь в нем. Начинают в небольшом числе показываться амебоциты, выползающие из материнского куска, очертание которого за это время также подвергаются небольшому изменению. Начинается и рост соединительно тканых клеток; из куска тянутся копьевидные выступы, точно брызги ткани во все стороны. Протоплазма соединительно-тканых клеток содержит в себе значительное число зернышек от самых незначительных размеров до более крупных. Не все соединительно-тканые клетки находятся в связи с куском; можно часто встретить на расстоянии от куска изолированно лежащие веретенообразные клетки, у которых не заметно видимой связи с куском; иногда эта связь осуществляется при помощи тоненького волоконца, вырастающего из куска и подходящего близко к такой клетке. На третий день рост нервных нитей не ослабевает, они остаются столь же хорошо выраженными, как в начале роста; из самого куска продолжают тянуться новые гомогенные нити. Между материнским куском и скоплениями клеток, лежащих вне его, устанавливаются связи при помощи гомогенных нитей. Что касается до хвостатых клеток, то их число уже начинает уменьшаться, они дегенерируют, зернисто распадаются. Однако их имеется еще значительное количество; они образуют сплетение, уходящее на значительное протяжении, образуя подобие какой то самостоятельной колонии, независимой от материнского куска. Амебоциты появляются все в большем и большем количестве, выползая из материнского куска. Протоплазма их медленно переливается и они переползают между петлями фибрина, меняя заметным образом свою форму. Рост соединительной ткани, где она имеется, продолжается, наблюдаются многочисленные кариокинезы. На четвертые сутки распад хвостатых клеток прогрессирует, за то число амебоцитов увеличивается все больше и больше, их движения остаются такими же оживленными. В стороне от материнского куска видны клетки особой формы (таб. II фиг. 3 и 4) с большим ядром и гомогенным длинным отростком.

По прежнему видны нервные волокна; это или пучки гомогенных нитей, которые тянутся из куска и исчезают вдали, то сливаясь с сетью фибрина, то оканчиваясь протоплазматическими утолщениями, или это волоконца более крупного калибра с веретенообразными утолщениями и узловатостями на протяжении и с

колбообразным вздутием на конце. На пятые сутки бледные нити, идущие из куска все еще отчетливо видны и существуют в большом количестве. (См. табл. I фиг. 2).

Уходя от материнского куска, они нередко пронизывают встречающиеся им скопления клеточных элементов и уходят далеко к периферии капли плазмы. Кроме таких тонких нитей видны волокна и более крупного калибра с ядрами, прилегающими к их поверхности (табл. I фиг. 1). Эти волокна, вступая в связь своими дистальными отростками, образуют нежные сплетения. Дегенерация хвостатых клеток продолжается, они при этом сливаются в какие то конгломераты, интенсивно окрашивающиеся анилиновыми красками. Амебоциты имеются все еще в большом количестве и оживленно держатся.

На шестые сутки хвостатых клеток видеть уже не удастся, гомогенные нити еще видны; они остаются видимыми до 8-го дня, после чего и они исчезают. На седьмой день можно видеть довольно большие клетки, не похожие на соединительно-тканые с многочисленными отростками, вступающими часто в связь с материнским куском. (См. фиг. 28) Кроме таких клеток можно видеть несомненные соединительно-тканые клетки, которые соединяются с материнским куском длинной гомогенной нитью с узловатостями на ее протяжении.

Амебоциты переживают все вновь появившиеся элементы; их можно наблюдать и на десятые сутки. После пересева кусочка в новую плазму, амебоциты продолжали выползать из пересеянного кусочка и их движение сохранялось и на 8 день пересева, причем количество их не только не уменьшалось, но увеличивалось. (См. фиг. 17). Мы могли установить 20 дневный срок жизни амебоцитов при условии их однократного пересева.

2. Последовательный рост в культуре из мозга взрослого животного.

Латентный период и в этих культурах продолжается около 15—20 часов и затем начинается рост прежде всего нервных нитей. Через 22—24 часа можно видеть появление тонких гомогенных нитей, резко преломляющих свет и идущих штопорообразно извиваясь. (См. фиг. 19). На своем конце они несут булавовидное утолщение. Импрегнирование серебром этой стадии роста дает типичные картины нервных волоконцев (см. табл. II фиг. 6). Кроме этих форм можно видеть и более крупный калибр нервных волокон. У некоторых волоконцев можно наблюдать слабое амебоидное движение, замирающее после длительного освещения. От куска отходит также волокна с четкообразными вздутиями и тупым концом. Появлением вышеописанных волокон дело и ограничивается в первые сутки роста.

На вторые сутки рост волокон значительно прогрессирует, их длина увеличивается. Встречаются волокна, которые выходят из двухполюсной клетки, стоящей у самой границы материнского куска. Встречается кроме того, много тонких и длинных гомогенных нитей, идущих из куска. Только на вторые сутки начинается рост соединительно-тканых клеток, быстро достигающий значительных размеров.

На третий день количество волокон начинает уменьшаться; вдали от материнского куска встречаются изолированно лежащие клетки с длинным гомогенным отростком. Соединительная ткань растет пышно, образуя перекладины и т.ж.: встречается много кариокинезов. Начиная с четвертого дня в культуре начинается дегенерация всех выросших элементов кроме соединительной ткани, которая продолжает свой пышный рост до 8—10 дня.

ГЛАВА VII.

Из сравнения жизни культур зародышевого и взрослого мозга необходимо отметить прежде всего то обстоятельство, что наиболее жизненными с наибольшим запасом потенциальной энергии роста оказывались культуры из зародышевого мозга. Они давали наибольшее богатство морфологически различных образований и эти образования отличались наибольшей жизненной устойчивостью. В то время как в культурах из взрослого мозга уже 3—4 день приносил с собою увядание культуры, за исключением соединительно-тканых элементов, в культурах зародышевого мозга жизнь не угасала до 7—10 дня. В культурах зародышевого мозга вырастали и развивались своеобразные клеточные элементы, которые мы назвали „хвостатыми“ клетками, появлялись амебоциты; в культурах же из взрослого мозга дело ограничивалось появлением волокон и количество вырастающих клеток, за исключением конечно мезодермальных, было минимальное. Очевидно в зародышевом мозгу имеется в значительном количестве клеточные элементы, развитие которых еще не закончилось, энергия роста которых находится еще в потенциальном состоянии. Будучи перенесены в питательную плазму, эти элементы продолжают свое развитие, используя ту скрытую потенциальную энергию роста, которую они обладают. Необыкновенность тех жизненных условий, которые имеют место при искусственном выращивании нервной ткани, несомненно отзывается на развитии и вновь растущих элементов, которые подвергаются изменению своей морфологической сущности, приобретая новые свойства, новые особенности. Клеточные элементы, развиваясь нормальным образом в ц. н. с. зародыша, приобретают характерные определенные формы клеточных элементов у взрослого животного, проходя определенные ступени развития. Находясь в организме, они получают достаточное количество питательного материала, определенного химического состава, все условия их существования в организме ограждают их от всех вредных влияний; далее, непрерывная связь со всей ц. н. с., оказывает на них определенное влияние, вызывая приспособление их к той работе, для которой они предназначены. Не так дело обстоит при искусственном выращивании нервной ткани. Не говоря уже о том резком насилии, каким сопровождается процесс удаления из всего органа кусочка нервной ткани, которая помещается в чрезвычайно тяжелые жизненные условия,

питание культивированной ткани также чрезвычайно меняется к худшему; вместо постоянного непрерывного подвоза питательного материала к самим клеткам, мы даю раз навсегда то количество материала, которое имеется в плазме; туда же им приходится отдавать и свои продукты обмена, накопление которых уже начинает ядовито действовать на них. Наконец, отсутствует такой чрезвычайно важный фактор, как специфическое возбуждение. Элементы ц. н. с. обычно, в нормальных условиях своего существования, постоянно находятся в сфере действия нервного тока. Нервная система есть трансформатор внешней энергии, которая, превратившись в нервное возбуждение, течет от периферии к центру, растекается, собирается в определенных центрах и отливает к периферии, переходя на конце центробежных путей в двигательные акты.

Физиологический процесс нервного возбуждения протекает по нервной ткани уже для этой цели дифференцированной и приспособленной, но в тоже время и сама ткань совершенствуется, создает лучшие и лучшие условия для возникновения и разрежения нервного тока именно благодаря прохождению через всю толщу ее этих токов. Постоянство функциональной деятельности ц. н. с. и является двигателем ее прогрессивного развития. Это важное обстоятельство, это непеременимое условие развития отдаленно функционирующих элементов почти полностью отсутствует в искусственных культурах центральной нервной системы. Нервная ткань, вырванная из ее обычной обстановки, выключается из того потока нервного возбуждения, который лился через нее во время общей жизни с организмом. Отсутствие этого уже ставшего быть может привычным возбуждения конечно не может не сказаться и на дальнейшем развитии тех элементов, которые в силу своей потенциальной энергии роста еще продолжают свое развитие. Вот почему в культуре вновь образованные элементы ц. н. системы дают такое разнообразие самобытных форм. Наблюдая развитие нервных элементов вне организма, это обстоятельство необходимо всегда учитывать и данные, полученные в результате изучения культур не переносить целиком на ткани, неизменно пребывающие в организме. Метод требует дальнейшего усовершенствования и развития, необходимо улучшить питание и создать те условия раздражения нервной ткани, которые существуют обычно, как физиологическое состояние в живом организме. Только тогда мы сможем говорить о нормальном развитии нервных элементов вне организма и судить о тех патологических изменениях, которые могут иметь место в наших культурах в зависимости от тех или иных условий.

Совершенно отчетливо можно наблюдать значительную энергию роста нервных волокон, берущих свое начало в пересаженных элементах ткани. Источниками их происхождения бывают в большинстве случаев несомненно клетки, но этим делом не ограничивается. Очень часто, исследуя на серии срезов источник происхождения вновь образованных волокон, мы не могли установить связи его с какими бы то ни было клеточными элементами. Весьма возможно, что такие волокна оказываются

глиозными волокнами, вырастающими из глиозной сети материнского куска. Обращает на себя внимание наклонность вырастающих нитей направляться к клеточным элементам, лежащим изолированно, как бы притягиваясь последними. Выше была описана наклонность хвостатых клеток, располагаясь в продольном направлении, образовывать непрерывно идущую цепь клеточных индивидуумов, мало по малу настолько сливающихся между собою, что можно говорить о вновь появившемся волокне с ядрами, расположенными на его протяжении (см. табл. III фиг. 9). Изучая жизнь хвостатых клеток, можно легко убедиться в их особенной наклонности и способности образовывать волоконподобные образования и сложное сплетение, имеющее характер синцития—получается протоплазматическая непрерывная масса со включением многочисленных ядер.

Итак мы можем установить по крайней мере три типа выростания нервных волокон.

Первый тип наиболее простой и состоит в простой продукции чрезвычайно тонких волоконцев имеющих совершенно неопределенное начало; второй тип—это волокна, выходящие из клетки, несомненно составляющие продолжение ее и имеющие те характерные формы (утолщение стенки), о которых более подробно говорилось выше. Третий тип, насколько можно делать выводы из сравнительно незначительного числа наблюдений, суть волокна образованные сливающимися клеточными индивидуумами—хвостатыми клетками, которые, образуя цепи, вытягиваются в продольном направлении и, сливаясь друг с другом, образуют волокна с ядрами, занимающими часто эксцентричное положение.

В настоящее время у нас нет пока еще данных, которые могли бы свидетельствовать и о различной физиологической роли этих трех типов волокон, различных и морфологически и по своему способу и характеру развития. Но уже можно ожидать у этих волокон и различную функцию, наименее сложную у первого типа волокон и более сложную у третьего типа. Возможность наблюдать живую ткань под микроскопом в естественных условиях жизни, без тех посмертных изменений ее, которые вносятся нашими реагентами при уплотнении и фиксации, эта возможность—позволяет нам получить более верное представление как о структуре клетки, так и о физиологии ее. Наблюдая ткань в живом, неокрашенном состоянии при известном навыке удастся очень легко разобраться в структуре клетки и наблюдать те изменения, которые там совершаются. Очень ясно видны многочисленные зерна, которые в большинстве случаев встречаются в протоплазме клеток, имея вид блестящих жировых капелек. По исследованиям Игнатовича (33), Кроптовского и Полева (35) они представляют из себя нейтральный жир. Эти зерна то чрезвычайно мелкие, образуют точно пыль и равномерно распределены по всей клетке, кроме ядра, то они более крупные и тогда их расположение варьирует в разном направлении.

Иногда поражает геометрическая правильность расположения этих зерен в протоплазме клетки, когда они идут цепочками в определенных участках клетки,

иногда располагаясь строго параллельными рядами и напоминая своим расположением ряды бус. Быть может такая правильность расположения зерен зависит от их способа развития—образование друг от друга. Во многих других клетках расположение зерен не такое стройное и правильное и часто остается правильность расположения только в отростках. Ядро живой клетки всегда бесцветно; в нем только с трудом можно заметить слабо выраженные матовые пятнышки. О его присутствии мы можем судить только косвенным путем по тому пустому пространству, которое остается между зернистостью протоплазмы, благодаря присутствию ядра.

В некоторых случаях мы могли с несомненностью наблюдать активность мельчайших зерен протоплазмы, быть может обусловленной амебодным движением самой клетки.

Виггюв (2) в своей работе подчеркивает важное значение состояния среды для проявления амебодного движения клеток, которое совершается у мезодермальных клеток при условии наличия хорошо выраженной сети фибрина. Действительно, наличие мелко-петлистой фибриновой сети необходимо для проявления активности ткани. Вновь образующиеся элементы, будут ли это волокна или будут это клетки, ползут по этой сеточке точно по лесам и опираясь на них, уходят далеко в сторону от материнского куска. Весьма вероятно, что успешность получения энергичной культуры зависит от состояния фибриновой сети. Дело в том, что фибрин при своем свертывании не всегда дает одинакового строения сеть. Иногда в силу каких то обстоятельств сеть получается неравномерная с большими неправильными ячейками, самые нити фибрина достигают значительной толщины. Такое строение фибрина крайне неблагоприятно для развития культур, хорошее развитие которой бывает только на равномерной мелко-петлистой тончайшей сети фибрина.

Эта повышенная активность роста ткани в зависимости от присутствия фибриновой опорной сети заслуживает самого серьезного внимания. Роль фибриновой сети окажется чрезвычайно важной и в деле заживления ран и при опытах трансплантации ткани или органа.

ГЛАВА VIII.

Дегенеративные процессы в культуре нервной ткани.

Попутным вопросом при опытах с культивированием нервной ткани является вопрос и о ходе тех дегенеративных процессов, которые можно было ожидать в наших культурах и о патологических формах переживающих нервных элементов. Дегенеративные процессы внутри куска, пересаженного в плазму, были обычно резко выражены уже довольно скоро. Материнский кусок из суточной культуры, разложенный на последовательный ряд срезов, представлял асную картину резко

выраженной дегенерации. Наблюдалось огромное количество пикнотических ядер, масса обломков, резко окрашивающихся основными анилиновыми красками; большое число клеток, часто со смещенным ядром и резко увеличенным количеством протоплазмы, содержащей в своих петлях продукты распада гвая.

Ядра эндотелия сосудов, если таковые попадали в культуру, были окружены увеличенным количеством протоплазмы, содержащей в петлях своих большое число включений разного рода, в виде зерен, глыбок и капель.

В ткани встречалось обильное число глиозных клеток с увеличенным количеством протоплазмы, содержавшей разного рода включения в виде зерен и капель жира.

Возле самого куска, на границе его с плазмой, можно было наблюдать много клеток с небольшим темноокрашенным ядром и протоплазмой, содержащей большое количество разного рода включений. (См. таб. III 11 фиг. Г, Z, У). Многие ганглиозные клетки представляли резкую степень дегенерации; объем их был увеличен, они представлялись как бы вздутыми, разбухшими; базофильная субстанция их протоплазмы была распылена, многие из клеток представлялись мутно набухшими, распавшимися внутри на капли жира и глыбки, интенсивно окрашивающиеся основными анилиновыми красками. На серебрянных препаратах фибриллярный аппарат клеток не мог быть обнаружен; в противоположность этим клеточным фибриллам, внеклеточные фибриллы обычно импрегнировались.

Рядом с таким тяжелым дегенеративным состоянием ткани имелись налицо вполне жизнеспособные здоровые элементы. Имелось много мелких ганглиозных клеток двуполосных с большим безцветным ядром с ядрышком и небольшим количеством базофильной субстанции, лежащей на полюсах клетки и переходящих в отростки.

В ткани имелось большое количество крупных бедных хроматином ядер, с несколькими ядрышками. Эти ядра были повидимому различного возраста (глиозные элементы). Попавшие в культуру сосуды содержали в своих стенках продолговатые вполне жизнеспособные ядра и путем деления давали начало новым эндотелиальным клеткам, вытягивающимся позже на 2-3 сутки в отростки—продолжение капилляра.

Резко выраженные дегенеративные явления, описанные выше, знаменуют собой гибель тех элементов, которые не пережили пассажа. Появление огромного количества клеток мусорщиков есть уже доказательство теплящейся жизни в культуре и действительно, через 24 часа начинается развитие новых элементов; нервных волокон—нитей, хвостатых клеток, а дегенерация ограничивается теми элементами, которые пострадали в первые 24 часа.

После роста нервных элементов пробуждаются к проявлению жизни соединительная ткань и жизнь кипит в культуре до того времени, когда по причине истощения питательных соков плазмы наступает умирание и дегенерация вновь образованных элементов. Наступает съезживание и фрагментация волокон, клетки

перерождаются, зернисто распадаются. Разжижение плазмы прогрессирует все больше и больше и в конце концов к 8—10 дню культура оказывается вымершей, за исключением разве только амебоцитов, которые в культурах зародышевой ткани мозга дольше других элементов сохраняют свою жизнеспособность.

Шок пересаженного кусочка нервной ткани, который мы наблюдаем в первые сутки, может иногда достигать такой степени, что получается впечатление смерти ткани; но проходят сутки и картина меняется, погибшие элементы, распадаясь, поглощаются клеточными элементами, появляются новые элементы и культура, казавшаяся погибшей, продолжает жить и развиваться. Бывают, конечно, случаи, когда дегенеративные процессы берут перевес над слабо растущими новыми элементами, распад ткани прогрессирует с каждым часом и жизненные проявления ткани угасают окончательно — наступает смерть культуры.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

Резюмируя все выше сказанное мы можем прийти к следующим общим выводам¹⁾:

Кора головного мозга от зародыша кролика, помещенная в питательную плазму при 38°—С. оказывается жизнеспособной и продуцирует следующие элементы:

Через 15-20 часов после посева начинается пролиферация особых одноядерных клеток, которые мы назвали „хвостатыми“. Оне имеют характерную форму и состоят из ядра иногда овальной формы и нежной гомогенной протоплазмы, тянущейся от ядра в виде тоненького хвостика, который иногда вилообразно разветвляется. В дальнейшем эти клетки начинают образовывать цепочки, при чем окончание хвостика одной клетки соприкасается с ядром другой и таким способом получается непрерывно тянущаяся нить — волокно гомогенной протоплазмы, на протяжении которой сидят эти ядра. В некоторых местах вдали от материнского куса образуются целые склепления — сплетения этих элементов, образующие часто компактные массы, состоящие в связи с материнским куском при посредстве вышеупомянутых цепочек. Деление ядра в хвостатых клетках происходит амитотическим путем.

2. В дальнейшем с течением времени эти клетки превращаются в особенные клетки, с большим ядром и с значительным количеством отростков, принимающих линейное протяжение и уходящих далеко от клетки. Протоплазма представляется зернистой, на фиксированных препаратах — петливой

¹⁾ Эти выводы были посланы нами в июне 1914 года в бюро международного конгресса по неврологии и психиатрии, имевшего быть в Берне, 7—12 сентября 1914-го года, (Congrès international de neurologie, de Psychiatrie et de Psychologie Berne 7 - 12 Septembre), в программу которого был включен и самый доклад. Неожиданно вспыхнувшая европейская война помешала нам своевременно выпустить в свет эту работу, которая появляется в силу независимых от нас обстоятельств далеко не в том виде, какой мы желали бы ей придать.

3. Одновременно с ростом вышесказанных элементов начинается рост особых нежных нитей, выходящих из материнского куса. Эти нити гомогенны, сильно преломляют свет и обладают слабым амёбидным движением. Период наилучшего роста их начинается через 20-24 часа. Освещение в течение 10 минут прекращает их движение. Они либо оканчиваются пуговчатыми утолщениями, либо расщепляются на мелкие веточки, теряющиеся постепенно в окружающей плазме. Гематоксилином они окрашиваются в слабый фиолетовый тон, серебром чернятся. На препаратах, обработанных серебром по методу Bielschowsky'so, видны еще нити с веретенообразными вздутиями, узловатостями и с концевыми колбообразными утолщениями. Часто нельзя установить связь между ними и клеточными элементами.

4. На вторые сутки начинается рост типичных соединительно-тканых клеток; их рост увеличивается до 8 дня, наблюдается много кариокинезов. Соединительно-тканые клетки имеют большое ядро овальной формы с небольшим количеством хроматина и зернистую протоплазму. Иногда расположение зерен в протоплазме отличается геометрической правильностью, они идут четкообразно правильными строго параллельными рядами. Длинные отростки клеток на своем дистальном конце имеют гомогенную протоплазму, в которой зернышки попадаются только очень редко. При уплотнении спиртом зернышки растворяются и протоплазма при окраске гематоксилином представляется мелко ячеистой.

5. Кроме больших веретенообразных фибробластов на вторые сутки встречаются вне материнского куса особые мезодермальные клетки округленной формы с небольшим круглым ядром богатым хроматином и с большим количеством протоплазмы, содержащей разного рода включения в виде зерен, капель и комочков, окрашивающихся гематоксилином в темносиний цвет (продукты обмена).

6. Со вторых суток начинается появление типичных амёбоцитов, количество которых увеличивается до 5—6 дня. Они выползают из материнского куса, уплывают далеко в сторону от него, пользуясь для своего передвижения сетью фибрина.

7. Все эти элементы вырастают в культуре из мозга зародыша, в культуре из мозга взрослого животного не наблюдается развитие хвостатых клеток и амёбоцитов.

8. Чем моложе мозг взятый для культуры, тем быстрее наступает разжижение фибрина плазмы вокруг куса; иногда уже через 24 часа посеянный кусок оказывается лишенным фибриновой опоры и находится во взвешенном состоянии в разжижившейся плазме. Все это говорит о жизненной способности элементов центральной нервной системы, частица которой отделяется от организма и помещается в искусственную среду.

Первые 15—20 часов идет продукция специально функционирующей нервной ткани гесп. невроглии, в дальнейшем превалирует рост соединительно-тканых элементов.

Начало роста культуры сопровождается энергичной работой ткани над очищением ее от погибших в первые часы пересадки элементов, затем идет пробуждение к жизни новых элементов и потом, вследствие истощения питательного материала, наступает дегенерация и вновь появившихся новых элементов и их смерть.

Необходимо усовершенствовать метод в следующем направлении.

1. Создать такие условия посева ткани, при которых удаляемой из органа ткани наносился бы минимум раздражения.

2. Заменить сеть фибрина такой неорганической сетью, которая, имея тонину и правильность ячеек одинаковую с сетью фибрина, и не подвергалась бы разжижению.

3. Пропускать непрерывной струей через культуру питательную сыворотку, насыщенную кислородом.

4. Пропускать через культуру минимальной силы электрический ток для возбуждения функциональной деятельности нервных элементов, появляющихся в культуре.

Нами уже были поставлены опыты в этом направлении, но война прервала нашу научную работу и помешала дальнейшему развитию этого метода. Однако мы полагаем, что факты изложенные нами не окажутся бесполезными и для хирургии наших дней. Эта высокой степени жизнеспособность нервных элементов, способность их развития даже в очень тяжелых жизненных условиях должна обнадежить хирурга при встрече его с ранениями центральной нервной системы, нужно только отсутствие инфекции, интимное тесное сближение участков ткани, заполнение промежутка хотя бы сетью фибрина и по этой сети потянутся вновь растущие нервные элементы и получится не только инертный рубец соединительной ткани, но физиологически эквивалентная всей деятельности разрушенной части органа новая ткань. Нужно продолжать изучение изолированной ткани, испытывать различные условия среды, как физические, так и химические и тогда полученные результаты можно будет перенести и в область клиники.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Авроров и Тимофеевский. Опыты культивирования тканей вне организма. Томск 1914 То же самое в Virchow's Archiv B: 216, 1914.

2. Burrows Montrose T. The growth of tissues of the chick embryo outside the animal body, with special reference to the nervous system. The Journal of experimental Zoology Vol. 10. 1911. pp. 63—86

3. Ой-же. Rythmische Kontraktionen d. isol. Herzmuskelzelle ausserhalb d. Organismus. Münchn. med. Wochenschr. 1912, № 27 pp. 1473—1475.

4. Carrel A. Die Cultur d. Gewebe ausserhalb des Organismus. Berlin. Klin. Wochenschr. B. 48. 1911.

5. **Oh жс** On the permanent life of tissues outside of the organism. The Journal of experim. Medicine 1912, XV p. 516
6. **Oh-жс** Pure cultures of cells. The Journal of experim. Medicine V. 16, 1912
7. **Oh-жс.** Neue Untersuchungen über d. selbständige Leben der Gewebe und Organe. Berlin. Klin. Wochenschr. 1913, № 24
8. **Oh жс.** Neue Fortschritte in der Kultivierung der Gewebe ansserhalb d. Organismus Berlin. Klin. Wochenschr. B. 49, № 12 p. 533, 1912
9. **Oh жс** Contribution to the study of the mechanism of the growth of connective tissue. The Journal of exper. Medicine V. 18, 1913
10. **Oh жс.** Artificial aetioation of the growth in vitro of connective tissue. The journal of exper. Medicine V. 17, 1913
11. **Oh жс** Present condition of a strain of connective tissue twenty eight months old. The Journal of exper. Medicine V. 20, 1914.
12. **Carrel and Burrows** Cultivation of tissues in vitro. The Journal of exper. Medicine V. 13, 1913.
13. **Carrel and Ingebrigsten** The production of Antibodies by tissues living outside the organisme. Journal exper. Medicine 1912 V. 15 p. 287.
14. **Champy.** Sur le phénomènes cytologiques, qui s'observent dans les tissus cultivés en dehors de l'organisme. I. Tissus épithéliaux et glandulaires (Note préliminaire) Compt. rend. Soc. biol. T. 72, 1912.
15. **Oh-жс.** La dédifférenciation des tissus cultivés en dehors de l'organisme. Bibliographie anatomique T. 23, 1913.
16. **Oh-жс** Reapparition d'une prolifération active dans les tissus différenciés d'animaux adultes cultivés en dehors de l'organisme. Compt. rend. Soc. biol. T. 75, 1913.
17. **Oh жс.** Note de biologie cytologique. Quelques résultats de la culture des tissus. I—Généralités; II—le muscle lisse (Note préliminaire). Archives de Zoologie expérimental T. 53. Note de Revues. 1913.
18. **Oh жс.** Nouvelles observations de reapparition de la prolifération dans les tissus d'animaux adultes cultivés en dehors de l'organisme. (Note préliminaire). Compt. rend. Soc. biol. T. 75, 1914
19. **Champy et Kritsch** Sur le sort des éléments du sang séparés de l'organisme. Compt. rend. Soc. biol. T. 77, 1914.
20. **Congdon.** The identification of tissues in artificial cultures. The anatomical Record V. 9, 1915.
21. **Dilger.** Ueber Gewebekulturen in vitro unter besonderer Berücksichtigung der Gewebe erwachsener Tiere. Deutsch. Zeitschr. f. Chirurgie B. 120, 1913.
22. **Drew G. Harold.** On the culture invitro of some tissues of the adult frog. The Journal of Pathology and Bacteriology V. 17, 1912—13
23. **Ebeling.** The permanent life of connective tissue outside the organisme. Journal of experim. Medicine V. 17, 1913
24. **Gravitz Paul.** Abbau und Entzündung des Herzklappengewebes Berlin. Schoetz 1914.
25. **Gravitz, Schlaefke und Uhling** Ueber Zellerbildung in Cornea und Herzklappen. Greifswald. Adler 1913
26. **Hada.** D. Kultur lebender Körperzellen. Berlin. Kl. Wochenschr. I. 12, № 1, p. 11.
27. **Harrison Ross G.** Observation on the living, developing nerve fibres. Anat. Record. V. I 1906—1908.

- 28 Он-же Embryonic transplantation and the development of the nervous system The Harwey Lectures 1907—8 ato uym Rec. Vol. 2.
- 29 Он-же. Tyrtter experiments on the development of periferal nerves. American Journal of Anatomy V 5 1906
- 30 Он же. The outrowth of the nerve fibre et cet Journ. of experim. Zool. Vol 9, p. 787—848, 1910.
- 31 Он же The cultivation of tissues in extrauens media. Anat. Record V. 6, 1912.
- 32 Hertwig O. Methoden und Versuche zur Erforschung der Vita propria abgetreter Gewebs—und Oryanstückchen von Wierbeltieren Archiv f. microsc. Anat. B 79, 1912
- 33 Игнатович Жировое перерождение in vitro Известия Петроградской биологической лаборатории т. 15, 1915. Тоже самое в Compt. rend soc. biolog T 76, 1914
- 34 Ingebrigsten. Regeneration of Axis-Cylinders in vitro. Journ. of experim. Medicine V. 18, 1914.
- 35 Кройтовский и Полев Ueber das Auftreten von lipoiden Substanzen in den Gewebekulturen und bei der Autolyse der entsprechenden Gewebe. Ziegler's Beiträge Bd 58 1914
- 36 Lambert The production of foreign body giant cells in vitro. Journal of exp. Medicine V 15 p 510, 1912.
- 37 Он-же. Variations in the character of growth in tissue cultures Anat. Record. V. 6 1912.
- 38 Lambert und Hanes. Beobachtungen an Gewebekulturen in vitro. Virchow's Archiv B. 211, 1913.
39. Loeb und Fleischer Ueber d. Bedeutung d. Sauerstoffs für das Wachstum d. Gewebe Von Säugefieren Biochem Zeitschr 1911 B. 36 p 98.
- 40 Максимов. Ueber die Zellformen des lockeren Bindegewebes Archiv f. microscop Anat Bd. 67, 1906.
41. Oppel. Ueber d. Kultur v. Säugetierengewebe ausserhalb d. organismus. Anatom. Anzeig. 1912 Bd XV p. 464.
- 42 Ranvier. Traite technique d' Histologie. Paris 1889.
- 43 Ruth. Cicatrization of wounds in vitro Journ. of experim. Medicine 1911, Vol. 13 p 422.
44. Шереминская и Миронова. К учению об искусственном выращивании животных тканей вне организма Русский Врач 1913 г.
45. Uhlenhut Cultivation of the skin—epithelium of the adult frog. Rana pi piens Journal of experim. Medicine V. 20, 1914.
46. Walton Albert I. On the sarvial and transplantability of adult mammalian tissue in simple plasma Journal of experim. Medic. V. 19, 1914.
47. Weil. Some observation on the cultivation of tissues in vitro. The Journ. medic. Research 1912, V. 26 p. 159.
-

ОБЪЯСНЕНИЕ ТАБЛИЦ.

Сокращения в объяснении таблиц.

- ах.—вершинное волокно,
п.—ядро.
z.—клетка,
амс.—амебоцит,
F.—волокна большого калибра,
f.—волокна малого калибра,
кг.—кариовинез,
тн.—материнский кусок,
schz.—хвостатая клетка.

ТАБЛИЦА I.

Фиксация осмием и в жидкости Сагпоу окраска Насматохулин'ом. 5 дневная культура зародыша. Картины зарисованы рисовальным прибором Abbe при увеличении Zeiss объектив 8 mm, окуляр 4.

- Фиг. 1. Часть материнского куса с волокнами выросшими из него. Волокна крупного калибра и содержат ядра.
- Фиг. 2. Часть материнского куса с выросшими из него пучками тонких f и толстых F нитей. а—скопление клеточных элементов, через край пробегает волокна. Имеются и ядра.

ТАБЛИЦА II.

- Фиг. 3 и 4. Фиксация осмием и в жидкости Сагпоу—все фиксированы на ровном стекле. Окраска гематоксилином.
- Фиг. 5 и 6. Уплотнение в формоле, окрашивание серебром по мет. Bielsehowsky'аго всей культуры целиком. заливка в парафин и приготовление срезов 3—4 p. толщиной.

Все рисунки сделаны при помощи рисовального прибора Abbe, фиг. 4, 5, 6 и 7 через маслянную иммерсию 2 mm. Zeiss'a, окуляр 4, высота трубы 182, фиг. 3—через объектив 8 mm. Zeiss'a, окуляр 4.

- Фиг. 3. Клетка из пятидневной культуры мозга с большим ядром (п) и длинным отростком (ах).
- Фиг. 4. Та же клетка при более сильном увеличении.
- Фиг. 5. Длинные нити с узловатостями и расширениями, выходящая из материнского куса; из 22 часовой культуры зародыша.
- Фиг. 6. 22 часовая культура из мозжечка молодого кролика, нервные нити (ах) выходящая из материнского куса (тн).

Фиг. 7. Суточная культура мозга зародыша. Хвостатые клетки вступающие в соединения между собою при помощи своих хвостиков.

ТАБЛИЦА III.

Все рисунки с препаратов, фиксированных на покровном стекле в жидкости Сагпоу и окрашенных гематоксилином, сделаны при помощи рисовального прибора Abbe; фиг. 8 через объектив 8 мм. Zeiss'a, окуляр 4, все остальные — масляная иммерсия 2 мм. Zeiss'a, окуляр 4.

Фиг. 8. 22-х часовая культура мозга зародыша кролика. Богатое развитие хвостатых клеток, образующих сплетения и собирающихся в особые котлемераты (а).

Фиг. 9. Суточная культура мозга зародыша. Хвостатые клетки образующие непрерывные цепи.

Фиг. 10. Лимфоциты из 8 дневной культуры мозга.

Фиг. 11. Сборный рисунок различных клеточных форм в 22 часовой культуре мозга зародыша:

а, в, с, d — хвостатые клетки разной формы, е, f, G — соединения хвостатых клеток между собою; H, J, K, Z, M, N, O, P — различные формы ядра R — соединительно тканная клетка (глиозная?).

T, Z, и V — различные формы клеток мусорщиков (Körschenzellen).

S — карокинез.

ТАБЛИЦА IV.

Фиксация на покровном стекле в жидкости Сагпоу, окраска гематоксилином. Двухсуточная культура из мозга зародыша. Рисунки через иммерсионную систему 2 мм. Zeiss'a, фиг. 12, окуляр 8, фиг. 13 окуляр 4.

Фиг. 12. Различные степени карокинеза.

Фиг. 13. Фибробласты с большими бледными овальными ядрами; WZ — соединительно тканная клетка (Максимова?) Kp — карокинез.

ТАБЛИЦА V и VI-я.

Рисунки сделанные с живых культур при сухих апохромотах Zeiss'a 8 мм и 4 мм; окуляр 4. Сухой апохромат.

Фиг. 14. Хвостатые клетки из суточной культуры мозга зародыша; а — виллообразное разветвление хвостика; б — четкообразные перетяжки клеточного тела.

Фиг. 15. Хвостатая клетка из зародышевого мозга с зернами внутри протоплазмы. В натуре эти зерна — блестящего цвета — на рис. обозначены черными.

- Фиг. 16. Трехдневная культура мозга зародыша; **mh**—материнский кусок; **schz**—хвостатая клетка с резко выраженным разветвлением хвоста.
- Фиг. 17. Четырехдневная культура из мозга зародыша. **Amc**—амебоциты; некоторые соединены двуконтурной блестящей нитью с материнским куском—**mh**; свободные амебоциты выпускают псевдоподии в виде фестонов.
- Фиг. 18. Пятидневная культура из мозга зародыша. **mh**—материнский кусок. **A**—амебоцит, выползающий из материнского куска; **B** тот же амебоцит через $\frac{1}{2}$ часа; **C**—тот же амебоцит через 1 час и **d**—тот же амебоцит через $1\frac{1}{2}$ часа. В центре видно ядро в виде блестящего круга, окаймленного матового цвета протоплазмой с мелкой зернистостью.
- Фиг. 19. Суточная культура мозга молодого кролика. **Th**—материнский кусок; **ax**—вновь выросшая нервная нить с концевой пуговкой—**k**.
- Фиг. 20. **A**—вновь растущее из материнского куска (**mh**) нервное волокно в культуре мозга молодого кролика; **b**—тоже волокно через сутки.
- Фиг. 21. Суточная культура из мозга зародыша **a** и **b** вновь выросшие нервные волокна с колбообразным вздутием на конце; **mh**—материнский кусок.
- Фиг. 22. Четырехдневная культура мозга зародыша; **mh**—материнский кусок; **ax**—вновь выросшее нервное волокно длиной в 85, μ ; **b**—концевая колба; **c**—узловатые расширения волокна.
- Фиг. 23. Суточная культура из мозжечка молодого кролика во время непрерывного освещения в течение 10 минут ауэровской лампой. **A**—волокно выросшее из материнского куска со слабым еле заметным амебоидным движением; **mh**—материнский кусок. **B**—то же волокно через 5 минут непрерывного освещения; оно спадается и деформируется; **c**—тоже волокно через 10 мин., деформированное и изогнувшееся спиралью.
- Фиг. 24. Двусуточная культура мозга взрослого кролика; **Z**—вновь образованная клетка (нервная?) с длинным волокном—**ax**, которое представляется двуконтурным с сердцевинкой и веретенообразными расширениями; **p**—ядро внутри клетки; **mh**—материнский кусок.
- Фиг. 25. Клетка с волокном—**ax** из трехсуточной культуры мозга молодого кролика, наполненная блестящими зернами, расположенными только в самом теле клетки; отростки ее гомогенны.
- Фиг. 26. Клетка (**Z**) из двусуточной культуры мозга молодого кролика, соединенная двуконтурным волокном (**ax**) с материнским куском—**mh**; **ax**—отросток клетки имеющий вид волокна; в центре клетки деформированное ядро.
- Фиг. 27. Семидневная культура из мозга зародыша; **a**—соединительно тканная клетка; **ax**—вновь выросшее волокно; **mh**—материнский кусок.

- Фиг. 28. Семидневная культура мозга зародыша; Z— вновь образованная клетка с большим количеством отростков, соединенная с материнским куском гомогенными волокнами
- Фиг. 29. Трехсуточная культура мозга молодого кролика, волокно с нитями из него выходящими
- Фиг. 30. Четырехсуточная культура мозжечка молодого кролика, b—клетка (соединительно тканная) с делящимся ядром; с—дочерняя клетка; а—клетка с одним извивающимся отростком, наполненная блестящими зернами идущими правильными четкообразными рядами D, E, F—веретенообразные утолщения, напоминающие клетку С.
- Фиг. 31. Большая клетка Z с волокном ах идущим к материнскому куску mh, по своему виду эта клетка напоминает пирамидальную клетку; внутри клетки крупные бляхи и зерна, резко преломляющие свет.

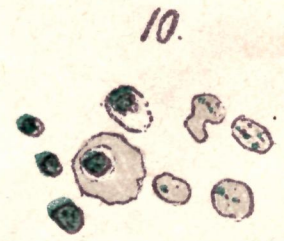
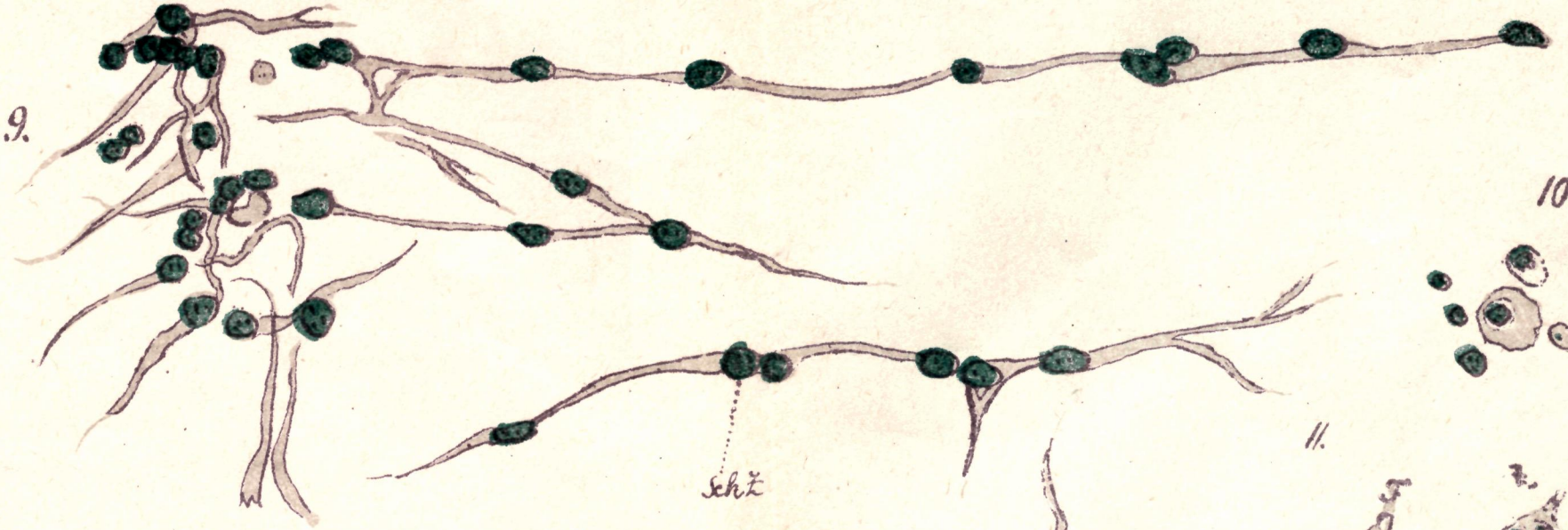
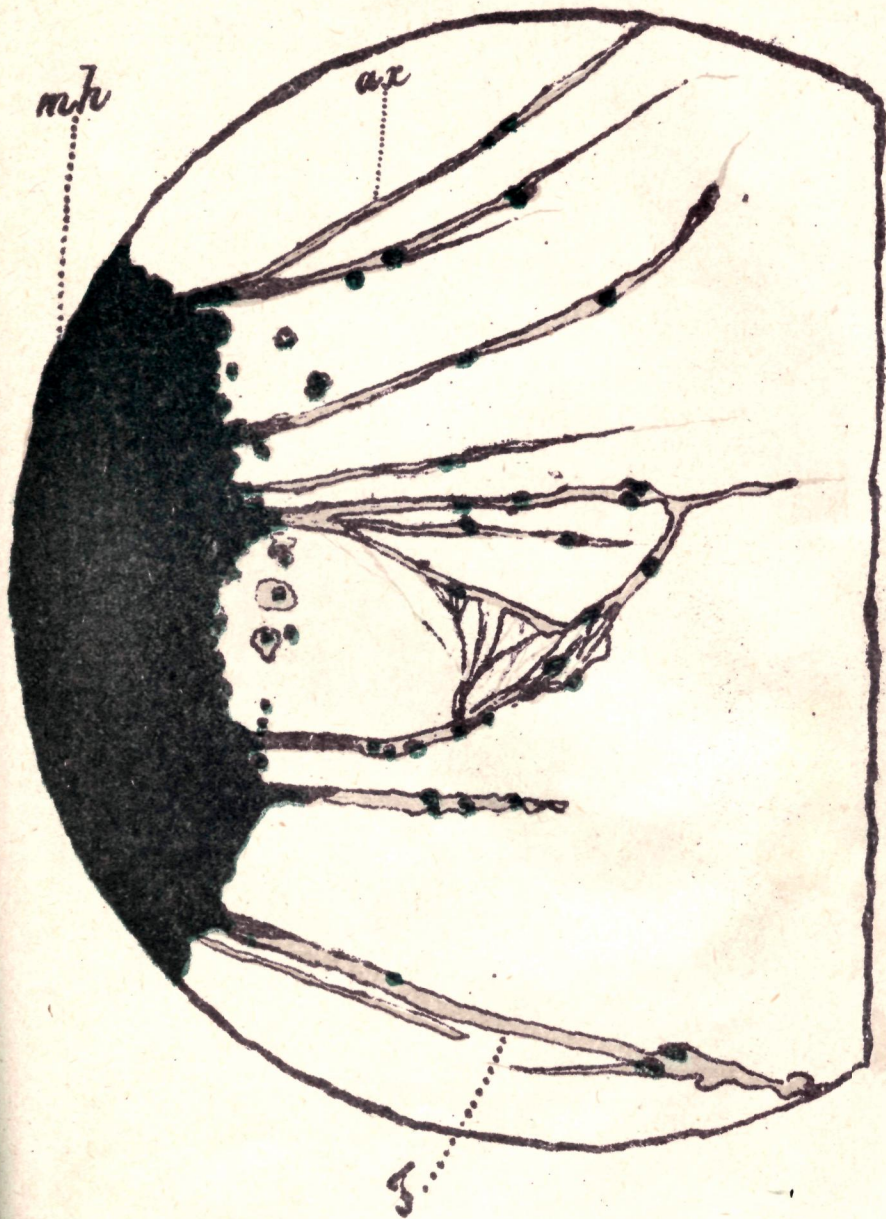


рис. Л.И.Опороков.



1.



2.

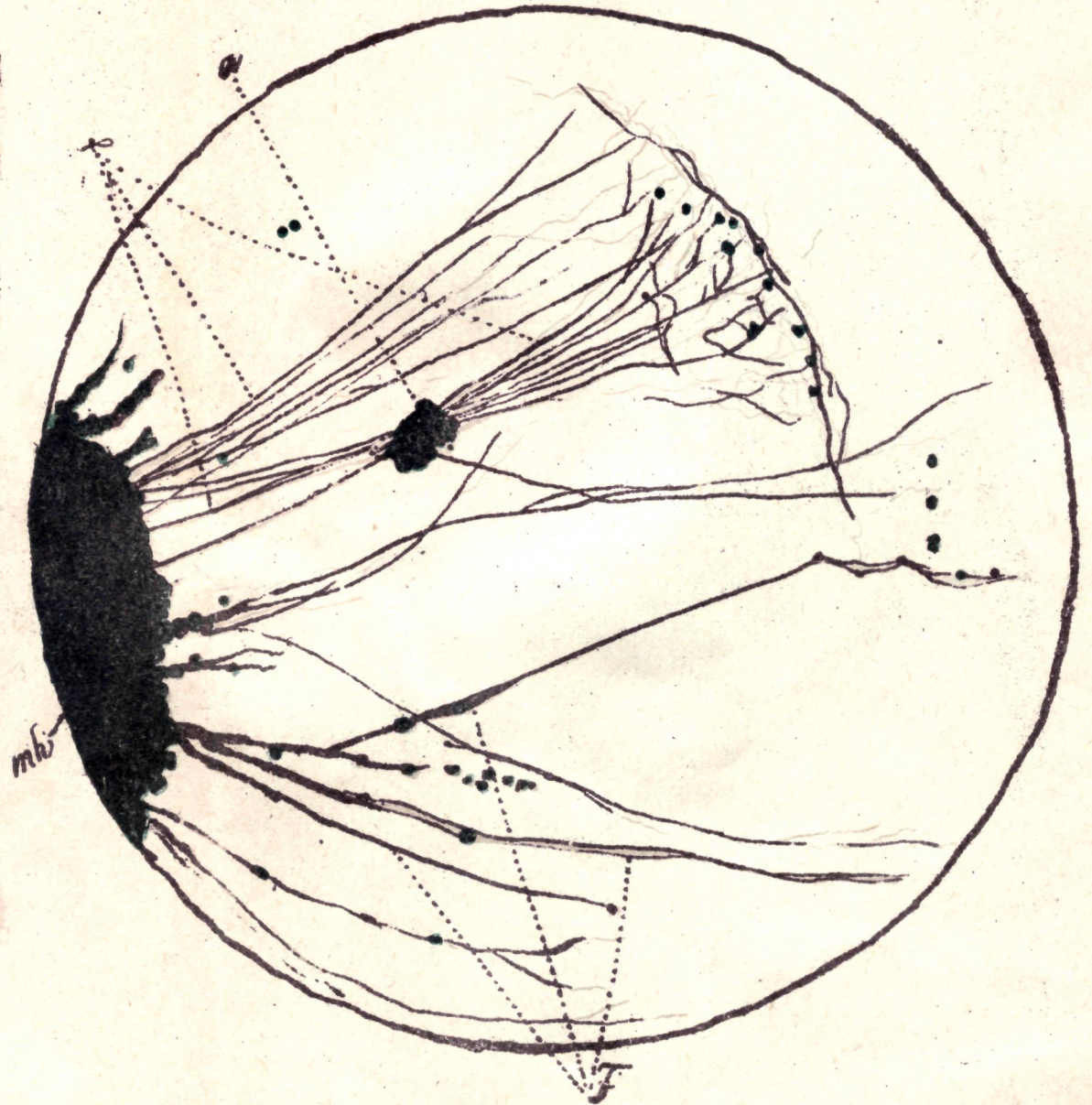


Рис. А. Н. Оморохов

Р. В. 4. Томск.

Народная литография № 1

12.

KY

13.

KY

KY



Рис. Л.И.ОМОРОКОВ.

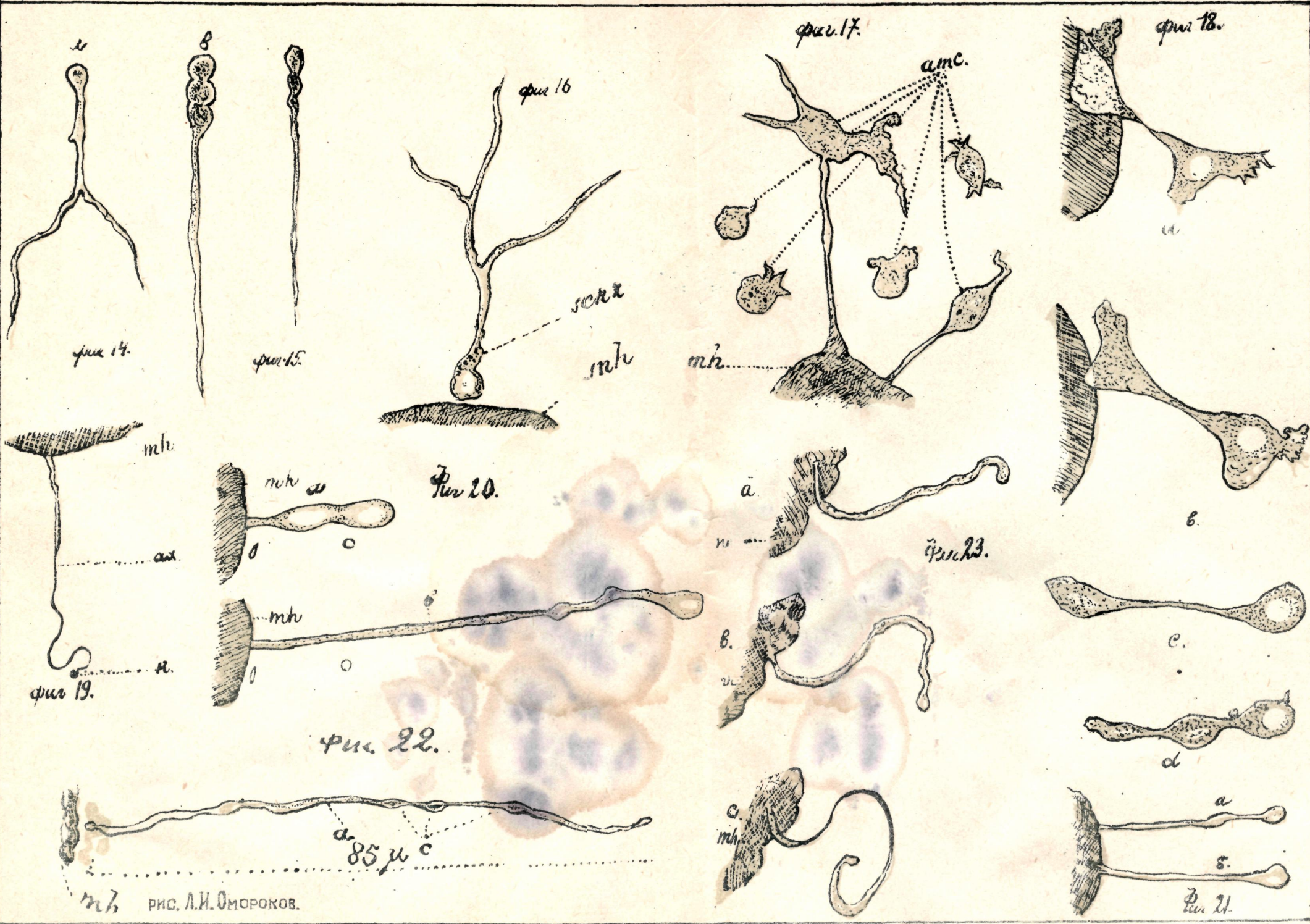


РИС. Л.И. ОМОРОКОВ.

Fig. 24.



Fig. 25.



Fig. 26.



Fig. 27.

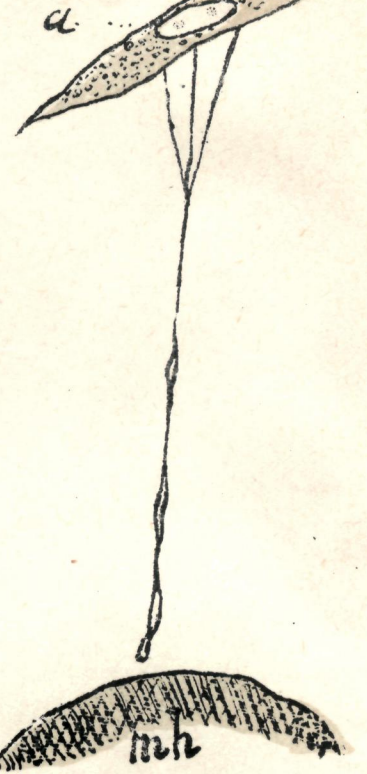


Fig. 30.



Fig. 28.

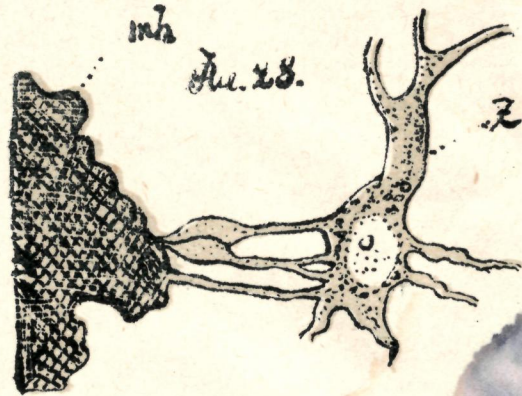
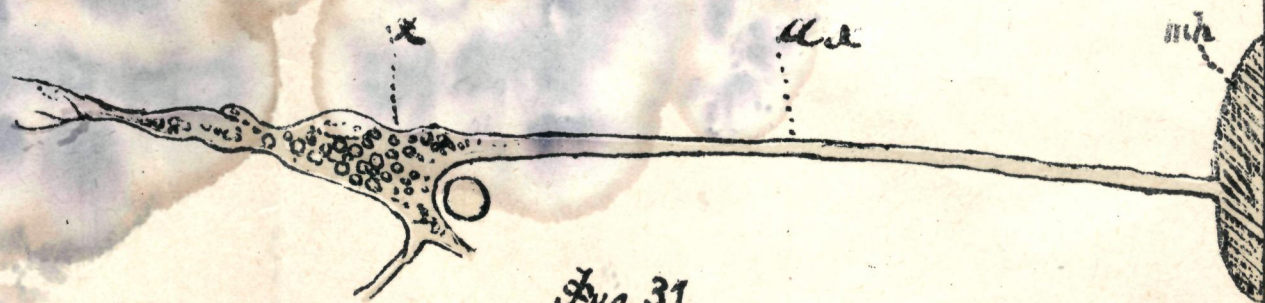


Fig. 29.



Fig. A. V. Vinogradov

Fig. 31.





Томское Губернское Отделение
Государственного Издательства

Р.В.Ц.—Томск

Томск. Народная типография № 2.