

576  
С-375

АКАДЕМИЯ НАУК КАЗАХСКОЙ ССР  
Объединенный ученый Совет институтов зоологии  
и экспериментальной биологии

---

На правах рукописи

А.Г.СИМОНОВА

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОГЕННЫХ СТИМУЛЯТОРОВ  
НА РОСТ И РАЗМНОЖЕНИЕ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ  
КУЛЬТУРЫ ТКАНИ

099-гистология и эмбриология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой  
степени кандидата биологических  
наук

Алма-Ата -1969

576  
С 375

АКАДЕМИЯ НАУК КАЗАХСКОЙ ССР  
Объединенный ученый Совет институтов зоологии  
и экспериментальной биологии

На правах рукописи

А.Г.СИМОНОВА

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОГЕННЫХ СТИМУЛЯТОРОВ  
НА РОСТ И РАЗМНОЖЕНИЕ КЛЕТОК В УСЛОВИЯХ  
КУЛЬТУРЫ ТКАНИ

099-гистология и эмбриология



Автореферат

диссертации на соискание ученой  
степени кандидата биологических  
наук

Алма-Ата -1969

3

Диссертация выполнена в Институте экспериментальной биологии АН Каз ССР ( директор-академик АН Каз ССР, доктор биологических наук, профессор Ф.М.Мухамедгалиев).

Научный руководитель - кандидат биологических наук, доцент И.А.Чагиров.

Диссертация изложена на 134 страницах машинописного текста, содержит 34 микрофотографии. Список использованной литературы включает 126 работ, из них 26 иностранных авторов.

Официальные оппоненты:

1. Доктор биологических наук А.М.Мурамадиев.
2. Кандидат биологических наук Р.А.Тохтамысова.

Ведущее предприятие - Казахский государственный университет им. С.М.Кирова.

Защита состоится 12 июня 1969 г.

Автореферат разослан \_\_\_\_\_ 1969 г.

Отзывы в двух экземплярах, заверенные печатью, просим присылать по адресу: г.Алма-Ата, 72, пр.Абая, 38, ученому секретарю Объединенного Ученого Совета институтов зоологии и экспериментальной биологии АН Каз ССР, доктору биологических наук А.М.Мурамадиеву.

## ВВЕДЕНИЕ. КРАТКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.

В последнее десятилетие усиливаются поиски новых биостимуляторов и испытание различных природных соединений.

Биологически активные вещества являются важными факторами стимуляции роста и развития организмов и находят применение в практической медицине и сельском хозяйстве.

Среди биологически активных веществ, называемых часто биогенными стимуляторами, наибольшее признание получили тканевые и гормональные препараты. Вопросы теории и практики применения тканевых препаратов в медицине и животноводстве разработаны В.П.Филатовым и его школой (И.И.Чикало, 1950; В.А.Бибер, 1950; А.Ф.Сысоев, 1953; С.Р.Мучник и др., 1958; В.В.Ковальский, 1962; П.Е.Радкевич, 1964).

Теоретические основы и практика применения антиретиккулярной цитотоксической сыворотки (АЦС) в медицине разработаны А.А.Богомольцем (1942) и его сотрудниками, предложившими методику ее приготовления, дозировки и проверки активности. По изучению механизма действия и применению цитотоксинов в животноводстве и ветеринации большую работу проводили К.Р.Викторов (1934, 1938, 1946), А.В.Озеров (1955), П.А.Карасев (1961, 1962), П.А.Карасев, Е.Ф.Дымко (1958, 1961), С.И.Севастьянов (1962) и другие.

Вопросы теории и практики применения гормонального метода в животноводстве с целью повышения плодовитости животных разработаны М.М.Завадовским (1935, 1942, 1956) и его сотрудниками (И.А.Эскин и Ю.Б.Скебельская, 1948; И.А.Эскин,

1944; А.Л.Падучева, 1935, 1942, 1965; Е.А.Какушкина, 1934; А.М.Лысов, 1940; А.-Ш.М.Амарбаев, 1963, 1967).

Для стимуляции роста и развития животных нередко используются экстракты и вытяжки различных органов, в том числе зубной железы. В последнее время выясняется роль зубной железы в иммуногенезе и стимуляции роста животных.

Нефтяные ростовые вещества (НРВ), впервые предложенные Д.М.Гусейновым (1944) для удобрения полей и стимуляции роста сельскохозяйственных культур, иногда используют в животноводстве (В.А.Сковронский, 1956; М.Д.Абдуллаев и Р.А.Гусейнова, 1964; А.А.Алиев, Н.Г.Ахундова и А.К.Шахман, 1960).

Культивирование ткани является подходящей моделью для изучения действия различных стимуляторов на животный организм и определения биологической активности новых средств стимуляции.

Культивированием тканей и клеток вне организма стали заниматься с конца прошлого столетия. Впервые оно было осуществлено А.Е.Голубевым (1875), И.П.Скворцовым (1886), У.Райхом (1885), Д.Холлием (1903), Л.Лебом (1902).

Метод культивирования тканей дальнейшее развитие получил в работах Р.Г.Гаррисова (1907, 1912), М.Т.Барроуза (1901, 1911), А.Карреля (1901, 1911), А.Карреля и А.Эбдинга (1922).

В разработку методов эксплантации тканей большой вклад внесли отечественные ученые (А.Максимов, 1923; А.А.Кронтовский, 1917; А.В.Румянцев, 1922; А.Д.Тимофеевский, 1928, 1938; Н.Г.Хлопи, 1932, 1934; Ф.М.Лазаренко, 1934, 1939; В.Цымбал, 1935; И.П.Птохов, 1940). Они изыскивали различные питатель-

ные среды и методы культивирования различных органов и тканей ( мышечных, нервных, костных, эпителиальных и других).

Метод культивирования тканей получил применение в области изучения растительных клеток ( А.А.Прокофьев, 1944; Е.В. Ивановская, 1946, 1960) и в широких масштабах вошел в практику биологических исследований в растениеводстве (Р.Г.Бутенко и Ю.А.Баскаков, 1960; М.С.Бердическая, 1961; Р.Г.Бутенко, А.А.Ничипорович, Н.П.Протасова, 1960, 1961).

Ныне метод культивирования клеток и тканей широко используется в биологических исследованиях различных направлений. Особое значение он приобретает при изучении механизма действия биогенных стимуляторов как тканевого и гормонального происхождения, так и синтетических веществ на изолированные животные ткани и клетки ( Д.Пол, 1962; С.Я.Зелкинд, 1962; В.Г. Заславский, 1961; О.Г.Анджапаридзе, В.И.Гаврилов, Б.Ф.Семенов, Л.Т.Степанова, 1962; А.Ф.Захаров, 1963; Я.Е.Хесин, 1963 и 1967; Р.Х.Адилгиреева, 1965). В последнее время на страницах научной печати появились отдельные сообщения, свидетельствующие о несомненном действии этих факторов на животные ткани и клетки в условиях их культивирования.

Действие СЖК на эксплантаты яичника и почек изучали М.Суаре-Сото, Х.Лиголь-Демар (1960), цитотоксинов Л.И.Барченко (1964), гонадотропного фактора Прид и Майкл (1966). Влияние на рост и развитие клеток в культуре фракций сыворотки было отмечено в работе Мансоли-Гюдотти (1967), гормонов в исследованиях Стоклосова и Козировска (1966), О.Колер-Петер, У.Мейлли-Берт (1968), К.Е.Фиктелиуса, Х.Лайна (1968).

В задачу наших исследований входило изучение влияния НРВ на культуру почечного эпителия и некоторых биогенных стимуляторов ( сыворотка жеребых кобыл, экстракт зубной железы и хорионический гонадотропин) на культуру почек и гонад в сравнении с нормальной сывороткой с целью выяснения значения их на рост и размножение клеток в условиях культуры.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ.

В наших исследованиях материалом служили почки и гонады новорожденных крольчат, которые культивировали методами однослойных культур и эксплантации.

Вся работа, связанная с получением материала и посевом клеток, проводилась в боксе.

Для выращивания однослойных культур мы пользовались жидкими синтетическими средами: средой 199 и 0,5% гидролизатом лактальбумина в растворе Ханкса, средой ГНКИ. Культивирование ткани производили в небольших матрацах Позицкой емкостью 100 мл, флаконах Карреля и пробирках, в которые предварительно помещались стерилизованные вместе с сосудами слюдяные пластинки.

Нормальная сыворотка крупного рогатого скота служила контролем для испытываемых стимуляторов. Разведения НРВ готовились из 40% натриевых солей нефтяной кислоты,

полученной из Азербайджанского института агрохимии. СЖК использовалось с удельной гормональной активностью 100 м.е. в 1 мл. Раствор экстракта зобной железы получали из суспензии тимуса овец. Был использован хорионический гонадотропин производства Бакинского завода медпрепаратов серия № 4, хориогонин - венгерский серия № 6309441541.

Клеточную взвесь для почек однослойных культур получали из почек крольчат методом трипсинизации. Подсчет клеток производился в камере Горяева, количество которых в 1 мл среды устанавливалось по формуле:

$$X = \frac{a \cdot 1000 \cdot 2}{0,9}, \text{ где}$$

X - количество клеток,

a - среднее количество клеток,

1000 - число кубических мм в 1 см<sup>3</sup>,

2 - коэффициент разведения суспензии добавленным объемом краски,

0,9 - объем камеры Горяева в мм<sup>3</sup>.

Исходя из результатов подсчета, клеточную взвесь разводили питательной средой в нужном соотношении. В опытные матрасы с питательной средой и высеянными клетками биостимуляторы добавляли: НРВ в 7 разных разведениях от 10<sup>-8</sup> до 10<sup>-5</sup>, СЖК, экстракт зобной железы, хорионические гонадотропины и нормальная сыворотка в 5 разных концентрациях от 10 до 0,5%. После посева пробирки и матрасы помещались



в термостат для инкубации при 37<sup>0</sup>С. Результаты учитывались в трех параллельных культурах с одинаковым разведением биостимуляторов на второй, третий и четвертый дни. Всего было проведено 30 серий опытов.

Для приготовления постоянных гистопрепаратов культуры фиксировались жидкостью Буэна при общем окрашивании гематоксилином Майера и эозином. Часть культур, предназначенная для изучения гликогена, фиксировалась и окрашивалась по методу Шабдаша с контролем амилазой (Роскин и Левинсон, 1957).

Кроме количественного учета, культуры оценивали по степени прикрепления их к стенкам сосудов и характеру роста. На гистологических препаратах монослоя, выращенного на слюдинках, изучали плотность и митотическую активность культур, в опытах с НРВ измеряли также диаметр клеток и их ядер.

Влияние биостимуляторов на эксплантаты почечного эпителия и гонады кроликов, культивированных на среде из смеси гипариновой плазмы молодых петухов и эмбрионального экстракта, изучали по характеру роста их, диаметру кусочков в центре и краевых зон с подразделением на плотную и рыхлую часть. Кроме этого давалась гистологическая характеристика росту и дифференцировке культур под влиянием указанных биостимуляторов в различных концентрациях.

Количественный учет клеток и гистологические исследования культур проводились с помощью микроскопа МБИ-2.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Наблюдения за ростом однослойных культур почечного эпителия под влиянием нефтяного ростового вещества ( НРВ).

В контрольных культурах с высоким содержанием сыворотки ( $10$  и  $5\%$ ) клетки прикреплялись плотнее и росли хорошо, с понижением концентрации сыворотки прикрепление их редкое, рост слабый. В культурах без сыворотки прикрепление и рост клеток почти не наблюдается.

В культурах с НРВ в разведениях  $10^{-3}$  и  $10^{-4}$  даже при наличии  $10$  и  $5\%$  сыворотки прикрепление клеток к стенкам сосудов очень слабое. Особенно незначительное прикрепление отмечалось в разведениях  $10^{-3}$ . В связи с этим рост клеток был весьма скудным, имелись только отдельные ростки их в виде мелких островков или участков.

Другая картина наблюдается в культурах с НРВ в концентрациях  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  и  $10^{-7}$ , в которых рост ткани по стенкам сосудов вполне сравним с контрольными, а в некоторых случаях, особенно в разведении  $10^{-5}$ , рост культуры несколько лучше ( табл. I ). В культурах с НРВ  $10^{-5}$  постоянно наблюдается довольно плотный и пышный рост эпителия по поверхности стекла. Однако в культурах с НРВ, как и в контрольных, рост клеток постепенно убывает с уменьшением содержания сыворотки в питательных средах. Это же относится и к изменениям количества клеток во взвешках.

В другой серии опытов, проведенных с содержанием сыворотки в культурах от 5 до 3% и без сыворотки, а культуры с НРВ в четырех разведениях от  $10^{-2}$  до  $10^{-9}$ , результаты роста клеток почти такие же, как и в предыдущих опытах. Наиболее сильный рост клеток отмечается в культурах с большим содержанием сыворотки (5%), несколько слабее - с меньшим (3%). Прикрепление клеток к стенкам сосудов почти отсутствует в культурах с НРВ  $10^{-2}$ , прикрепление более выражено, лучше даже, чем в контролях, в культурах с НРВ  $10^{-5}$ . В остальных культурах показатели роста клеток ниже по сравнению с ними.

Таблица I

Влияние НРВ на рост клеток в культуре почечного эпителия новорожденных кроликов

Разведение НРВ	Содержание сыворотки. %				
	10	5	3	1	0
Контроль	+++++	++++	+++	++	+
$10^{-2}$	260	211	85	18	11 (+)
$10^{-4}$	301	143	79	19	9 (-)
$10^{-5}$	679	410	230	142	26
$10^{-6}$	609	438	174	103	18
$10^{-7}$	418	321	184	110	21 (-)
$10^{-8}$	392	287	195	118	33 (-)

Обозначения: кресты - степень прикрепления и микрокартины роста культуры по пятибалльной шкале, цифры - количество клеток ( в тысячах) в 1 мл жидкости.

При большом содержании сыворотки монослой получался очень ровный, почти однородный в виде сплошной мембраны с немногочисленными просветами. В нем преобладали хорошо дифференцированные плоскоклеточные участки из крупных, почти однотипных клеток, а тяжи веретенчатых клеток почти незаметно сливались с ними, так как клетки их претерпевали изменения к уплощению.

Несколько иную картину имеет монослой в культурах с малым содержанием сыворотки. В нем преобладают малодифференцированные эпителиальные клетки и содержатся довольно многочисленные скопления клеток, образовавшихся как первичные очаги размножения, которые напоминают собой микроэксплантаты.

Если в культурах с высоким содержанием сыворотки монослой достаточно зрелый и массивный, в нем в одинаковой степени представлены участки плоских и веретенообразных клеток, то в культурах с малым содержанием сыворотки монослой рыхлый и молодой, в нем преобладают веретенчатые клетки, в таких культурах рост и дифференцировка клеток значительно задерживается.

Микроскопический анализ культур с разведением НРВ  $10^{-3}$  и  $10^{-4}$  показывает, что выросшие культуры по характеру очень неоднотипны и сильно отличаются от контрольных. В культурах с низким содержанием сыворотки НРВ в указанных концентрациях оказывает тормозящее действие.

В культурах с концентрацией НРВ  $10^{-5}$  и  $10^{-6}$  наблюдается

большее сходство выросших эпителиальных мембран с контрольными, а в ряде случаев даже несколько превосходят их по плотности и строению. В культурах с НРВ  $10^{-5}$  устанавливается более интенсивный рост эпителия, нередко превосходящий контроль. Формируется более массивный монослой с сохранением нормальных свойств клеток к дифференцировке. Надо полагать, что НРВ в разведении  $10^{-5}$  степени усиливает рост и дифференцировку культивируемой ткани.

В культурах с НРВ в разведениях  $10^{-7}$  и  $10^{-9}$  монослой в гистологическом отношении во многом сходен с контрольным, но несколько уступает им по плотности клеток. Из опытных культур с НРВ наибольшую плотность показывают культуры, содержащие НРВ в разведении  $10^{-5}$ , затем следуют культуры с НРВ  $10^{-7}$  и  $10^{-9}$ . Более низкие показатели плотности монослоя устанавливаются в культурах с высоким содержанием НРВ  $10^{-3}$ . И в этих культурах самый низкий процент митозов. При содержании в культурах 10% сыворотки наибольший диаметр клеток и ядер наблюдается в контрольных вариантах опыта. Средний диаметр клеток равен 22,1, диаметр ядра 12,0 мк. В опытах культурах с НРВ значительные отклонения размеров клеток и ядер обнаружены при концентрациях НРВ  $10^{-8}$  и  $10^{-4}$ , средний диаметр клеток уменьшается до 16,2, ядер до 10,4 мк. При других концентрациях НРВ в питательных средах величины клеток и ядер близки к контрольным.

Таким образом, клетки контрольных культур и культур с НРВ в разведениях  $10^{-5}$  и  $10^{-7}$  при содержании 10% сыворотки крови имели почти одинаковые размеры. В остальных случаях

с увеличением концентрации НРВ в питательных средах культурные клетки были меньшими. Следовательно, положительное действие на культуру почечного эпителия НРВ оказывают только в указанных концентрациях.

## 2. Влияние некоторых биогенных стимуляторов на однослойную культуру почечного эпителия.

В контрольных культурах с сывороткой 10% прикрепление клеток к стенкам сосудов наблюдалось повсеместно и во всех сосудах отмечали довольно сплошной и ровный рост эпителия. Количество клеток во взвесах в среднем по пяти опытам составило 875 тыс. в 1 мл. В культурах же с сывороткой 3 и 1% прикрепление клеток и образование монослоя шло более медленно и монослой получался рыхлый. Количество клеток в 1 мл среды равнялось 676 тысячам в культурах с 3% сыворотки и 592 тысячам с 1%.

В культурах содержащих с 10 и 3% СЖК клетки эпителия росли плотными рядами и местами образовывали утолщенные участки, наслоения клеток.

Количество клеток в 1 мл среды больше, чем в контрольных на 19,3, в культурах с содержанием СЖК 10%, 26,2 с СЖК 3% и 16,3 с 1% СЖК.

В культурах с экстрактом зубной железы прикрепление клеток к стенкам сосудов во всех случаях почти не наблюдалось, вследствие чего монослой не образовался. Количество клеток во взвесах при содержании 10% экстракта на 65,1%

превышает контроль, при 3% на 59,1 и с 1% экстракта на 26,3%.

В опытах второго варианта, поставленных по более широкой схеме ( табл.2), контрольные культуры с 10% нормальной сывороткой содержали в 1 мл жидкости 827 тыс.клеток, с 5%-724, с 3% - 654, с 1% - 382 и 0,5%- 210 тыс.клеток. По мере ослабления концентрации нормальной сыворотки в среде степень прикрепления клеток к стенкам сосуда также снижается. Судя по количественным показателям содержания клеток во взвесах культур с СЖК и степени прикрепления их к стенкам сосудов можно отметить более энергичный и дружный характер роста монослоя и многочисленность содержащихся во взвесах клеток, намного превосходящих контроль. По сравнению с контролем превышение содержания клеток в 1 мл взвеси в культурах с 10% СЖК составляет 27, с 5% СЖК -29, с 3% СЖК 21 и с 1 и 0,5% в 1,5 и 2 раза. Во всех разведениях СЖК образование монослоя было сильно выражено.

В культурах с экстрактом зобной железы, главным образом, наблюдалось усиленное размножение клеток во взвесах, прикрепление клеток к стенкам сосудов и рост монослоя почти отсутствовали или наблюдались в очень слабой степени. В культурах, содержащих 10 и 5% экстракта, насчитывается около миллиона клеток, а в отдельных опытах число их доходит до 1,8 и 1,3 миллионов. Превышение среднего числа клеток по отношению к контролю составляет более 43%.

В культурах с меньшим содержанием экстракта зобной железы количество клеток во взвесах также высокое по сравне-

Таблица 2

Влияние некоторых биогенных стимуляторов на рост клеток в культуре почечного эпителия новорожденных кроликов

№ пп	Биостимуляторы	Кол-во опытов	Разведение стимуляторов, %				
			10	15	13	11	0,5
1.	Нормальная сыворотка теленка (контроль)	5	++++	++++	+++	+++	*
			827	724	654	382	210
2.	Сыворотка жеребых кобыл	5	++++	++++	+++	+++	++(+)
			1054	939	790	548	462
3.	Экстракт зубной желез	5	+или++	+	-	-	-
			1189	1038	783	612	575
4.	Экстракт зубной желез и нормальная сыворотка в соотношении 1:1	3	++++	++++	+++	+++	++(+)
			1101	1065	950	809	634
5.	Хориогонин (венгерский)	5	-	-	3,0	-	-
			240	177	3,0	-	-
6.	Хориогонин (венгерский) и нормальная сыворотка в соотношении 1:1	3	++++	++++	+++	++(+)	++(+)
			704	581	519	469	338

Обозначения: кресты - степень прикрепления и макрокартина роста культуры по пятибальной шкале; цифры - количество клеток (в тыс.) в 1 мл жидкости.

нию с контролем, особенно в культурах с 1 и 0,5% экстракта. Во всех этих культурах с низким содержанием экстракта прикрепление клеток к стенкам сосудов почти не наблюдалось. Однако опыты, поставленные с экстрактом зубной желез и нормальной сывороткой в соотношении 1:1, показали пышный рост монослоя по стенкам сосудов и большое количество клеток во взвесах.



Если количество клеток в культурах с высоким содержанием стимуляторов больше миллиона и на 33-47% превышает контроль, то и при низких концентрациях количество их не менее 800-600 тысяч, что в два-три раза больше, чем в контрольных культурах.

На стенках сосудов монослой выглядит довольно плотным и сплошным в культурах с высоким содержанием стимуляторов, с меньшей концентрацией стимуляторов отмечался неравномерный рост, но он выглядел пышнее по сравнению с контрольными.

В опытах с хориогонином культуры росли очень слабо. Некоторый рост и размножение клеток наблюдался в культурах, содержащих 10 и 5% хориогонина. Среднее число клеток во взвесах составило 240 и 290 тысяч, а рост монослоя был настолько мал, что едва оценивался одним крестом. В культурах с меньшим содержанием хориогонина роста и размножения клеток почти не наблюдалось. Однако при добавлении в питательные среды хориогонина с нормальной сывороткой (1:1) в тех же дозах во всех опытах наблюдался умеренный рост культур, в то же время количество клеток во взвесах меньше, чем в предыдущих опытах культурах с другими биостимуляторами.

Даже культуры, содержащие 10, 5 и 3% хориогонина с нормальной сывороткой, по росту монослоя и количеству клеток во взвесах значительно уступают контрольным. Можно лишь отметить несколько больший рост клеток по сравнению с контрольными в культурах с малым содержанием хориогонина

В таблице 3 приведены данные, характеризующие изменение плотности монослоя в зависимости от концентрации стимуляторов и его митотической активности.

Показатели опытных и контрольных культур хотя по величине различаются довольно значительно, но они имеют общую тенденцию к снижению в связи с уменьшением концентрации стимуляторов в питательных средах. Количество клеток в поле зрения и содержание митозов в культурах не всегда изменяется однотипно, большая митотическая активность клеток не везде сопровождается повышенным количеством их в поле зрения.

При сравнении культур с нормальной сывороткой и с СЖК можно отметить довольно стройную картину изменения плотности расположения клеток в монослое и постепенное уменьшение митозов. При этом во всех случаях процент митозов в культурах с СЖК превосходит контроль, а количество клеток в поле зрения в отдельных случаях выше контроля или одинаковы с ним. Культуры с 10% экстракта зубной железы вместе с сывороткой показывают большую плотность расположения клеток в монослое и высокий процент митозов, тогда как показатели культур с 3%- невысокие. В монослое культур с хоригономинином вместе с сывороткой количество клеток и содержание митозов не выше, чем в контрольных культурах.

### 3. Рост эксплантатов под влиянием нормальной сыворотки, СЖК и экстракта зубной железы

Опыты с эксплантатами показали, что во всех без исключения культурах зоны роста эксплантатов почек и гонад по-

Таблица 3

Животное	Разведение стимуляторов, %											
	1/0			1/5			1/10			1/1		
Биостимуляторы	количество лей зренин	количество клеток в поле зрения	% митозов	количество полей зренин	количество клеток в поле зрения	% митозов	количество полей зренин	количество клеток в поле зрения	% митозов	количество полей зренин	количество клеток в поле зрения	% митозов
1. Нормальная сыворотка крови теленка (контроль)	70	109	7,5	55	113	7,4	60	83	5,0	70	70	4,3
2. Сыворотка жеребых кобыл	70	156	13,9	45	110	14,1	49	82	9,5	50	78	5,9
3. Экстракт зобной железы и нормальная сыворотка в соотношении 1:1	20	186	19,7				10	104	4,1			
4. Хоригонадин (венгерский) и нормальная сыворотка в соотношении 1:1				20	98	8,3	10	76	5,9	20	62	6,1

оползание  
монослоя

оползание  
монослоя

оползание  
монослоя

ворожденных кроликов -самцов( табл.4) имеют определенную связь с количеством и качеством испытываемых стимуляторов и нормальной сыворотки. С повышением концентрации стимуляторов в питательных средах увеличиваются зоны роста эксплантатов, что особенно характерно для рыхлой ее части. Под влиянием СЖК и экстракта зубной железы вместе с сывороткой (1:1) зоны роста у эксплантатов достигают значительных размеров, но стимулирующее действие СЖК проявилось сильнее, чем нормальной сыворотки и экстракта зубной железы с сывороткой.

При сравнении гистологической картины роста опытных и контрольных культур устанавливаются заметные различия между ними, а также между культурами, содержащими разные биостимуляторы. Под влиянием нормальной сыворотки в краевых зонах эксплантатов почек растут преимущественно фибробласты и отчасти блуждающие клетки, под влиянием СЖК- сложные комплексы, состоящие из удлинённых эпителиальных клеток, фибробластов и округлых блуждающих клеток, а в присутствии в питательных средах экстракта зубной железы, а также экстракта с нормальной сывороткой наблюдается рост эпителиальных мембран. В культурах эксплантатов гонад с нормальной сывороткой растут эпителиальные клетки и фибробласты, они вместе составляют комплексы, содержащие блуждающие клетки. Под влиянием СЖК в зонах роста появляются своеобразные эпителиальные мембраны с незначительным числом фибробластов. Они очень богаты блуждающими клетками.

Таблица 4

Рост экскрементов почки и гондады в зависимости от концентрации биостимуляторов

№ п/п	Биостимуляторы	Кол-во Концев-опытов, тирация, %		Средний диаметр, мк				Экскременты		
		Почки	Гондады	Рыхлая зона		Плотная зона			Почки	Гондады
				Почки	Гондады	Почки	Гондады			
1.	Контроль, нормальная сыворотка теленка	5	7,5	107,7	90,5	47,5	45,8	138,0	100,4	
			15	112,4	108,1	49,6	34,2	131,6	85,5	
			30	117,5	128,8	51,1	39,1	134,2	110,9	
2.	Сыворотка жеребых кобыл (СЖ)	5	7,5	127,2	123,7	44,9	47,4	159,2	117,1	
			15	158,4	155,6	51,8	51,8	149,0	110,4	
			30	188,2	210,8	50,2	56,5	152,3	107,3	
3.	Экстракт зорной железы (ЭЖ)	5	7,5	71,8	-	45,5	-	153,4	90,3	
			15	75,1	-	50,7	-	148,4	97,5	
			30	82,0	-	44,1	-	158,9	-	
4.	ЭЖ + нормальная сыворотка теленка I:I	5	7,5	109,0	122,8	46,6	69,5	151,8	119,2	
			15	128	125,0	45,8	71,2	163,6	100,7	
			30	133,3	134,9	47,1	78,3	147,3	113,1	

Таким образом, в условиях эксплуатации под влиянием разных биостимуляторов происходит своеобразный дифференцированный рост клеток различных тканей. В присутствии нормальной сыворотки в питательных средах, у эксплантатов почки растут преимущественно соединительнотканые элементы, фибробласты и блуждающие клетки, под влиянием экстракта зобной железы - эпителиальные мембраны. В культурах эксплантатов гонады под влиянием нормальной сыворотки растут клеточные комплексы с преобладанием фибробластов, а под влиянием СЖК - сложные комплексы с преобладанием эпителиальных клеток и блуждающих элементов, экстракт зобной железы не стимулирует рост клеток гонады. Следовательно, применяя в определенных дозах указанные стимуляторы, возможно регулировать рост и дифференцировку клеточных и тканевых элементов в культурах эксплантатов из разных органов и тканей.

## В ы в о д ы

I. В развитии монослоя в культурах почечного эпителия возможно установить три последовательных этапа, или стадии. Первый этап - оседание и прикрепление клеток и клеточных групп к стенкам сосудов и слюдяным пластинкам, появляются первые растущие клеточные формы. Монослой очень рыхлый, в нем преобладают округлые формы клеток. На втором этапе имеет место преимущественно пролиферативный процесс,

Усиливается размножение различных клеток и клеточных групп. Последние обособляются в виде первичных очагов размножения, появляются ограниченные скопления из мелких округлых базофильных (лимфоидных) элементов. В монослое преобладают тяжевидные образования из веретенкообразных и стростчатых форм клеток и синацитиальные структуры. Третий этап характеризуется дифференцировкой и формированием плотного монослоя с преобладанием участков из плоских клеток.

2. В однослойных культурах с нормальной сывороткой нефтяные ростовые вещества (НРВ) в концентрациях  $10^{-3}$  и  $10^{-4}$  препятствуют прикреплению клеток к стенкам сосудов, хотя последние свободно размножаются во взвешях. НРВ в концентрациях  $10^{-5}$  и  $10^{-6}$  не только не препятствуют прикреплению клеток, даже несколько способствуют образованию плотного монослоя при достаточном количестве сыворотки (10 и 5%). По количеству клеток во взвешях такие культуры не уступают контрольным. НРВ в любой концентрации без добавления сыворотки не стимулирует роста клеток в культурах.

3. В культурах с сывороткой НРВ в концентрациях  $10^{-3}$  и  $10^{-4}$  оказывают некоторое токсическое действие на клетки, выражающееся в полиморфизме клеточных элементов монослоя, образовавшегося в отдельных случаях с преобладанием мелких клеточных форм. В культурах с НРВ в концентрациях с  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  и т.д. клеточные элементы вполне сравнимы с контрольными.

4. В однослойных культурах с содержанием 10, 3 и 1% сы-

воротки жеребых кобыл (СЖК) количество клеток в одном мл среды больше на 19,3, 26,2 и 16,3% контрольных, содержавших соответственно 10; 3 и 1% нормальной сыворотки. Количество клеток во взвесах, содержавших 10% экстракта зубной железы, превышает контрольное на 65,1%; 3% - на 59,1% и 1% - на 26,3%.

5. Под влиянием гормональной сыворотки (СЖК) в однослойных культурах усиливается митотическая активность клеток и монослой достигает большой плотности. Культуры с СЖК по степени прикрепления клеток и образованию монослоя превосходят другие культуры, контрольные и опытные.

6. В однослойных культурах экстракт зубной железы стимулирует размножение клеток во взвесах, но не способствует прикреплению их к стенкам сосудов и образованию монослоя. В то же время он в сочетании с нормальной сывороткой ( в соотношении 1:1) лучше проявляет свое стимулирующее действие на рост клеток, способствует прикреплению их к стенкам сосудов и образованию плотного монослоя.

7. В однослойных культурах хорионический гонадотропин (хориогонин) не способствует прикреплению клеток и росту их в отсутствии нормальной сыворотки, добавления же ее в питательные среды обеспечивает хорошее прикрепление и образование довольно плотного монослоя. Однако количество клеток во взвесах меньше, чем в однотипных разведениях экстракта зубной железы с сывороткой.

8. Биогенные стимуляторы оказывают на культуры эксплан-



татов почек и гонад избирательное действие. Под влиянием СЖК и экстракта зубной железы в сочетании с нормальной сывороткой зоны роста эксплантатов достигают значительных размеров, экстракт зубной железы без сыворотки имеет слабый стимулирующий эффект. Нормальная сыворотка у эксплантатов почки вызывает рост преимущественно соединительнотканых элементов, фибробластов и блуждающих клеток, СЖК - сложных комплексов из различных клеток, а экстракт зубной железы - эпителиальных мембран. В культурах эксплантатов гонады в присутствии одной контрольной сыворотки растут сложные комплексы с преобладанием фибробластов и блуждающих клеток, а под влиянием СЖК - эпителиальные комплексы. Экстракт зубной железы не стимулирует рост клеток гонады.

9. Гормональные препараты (экстракт зубной железы и хоригонадин) в натуральном виде в условиях культуры вне организма не способствуют прикреплению клеток, действие их значительно лучше проявляется в различных сочетаниях с нормальной сывороткой, даже в минимальных дозах. Следовательно, необходимым условием стимулирующего действия указанных препаратов в условиях культуры присутствие сыворотки, что собственно является проявлением синергизма. Активное действие гормональной сыворотки (СЖК) в условиях наших опытов, повидимому, объясняется также этим явлением.

По материалам диссертации опубликованы следующие работы:

1. Влияние нефтяного ростового вещества на культуру почечного эпителия. "Известия АН Каз ССР", серия биологическая, № 6, 1965, Алма-Ата.

2. Влияние СЖК и экстракта зобной железы на культуру почечного эпителия. "Вестник сельскохозяйственной науки" МСХ Каз ССР, № II, 1966, Алма-Ата.

3. Действие некоторых эндокринных препаратов на культуру животных тканей. Труды института экспериментальной биологии АН Каз ССР, т.У, 1969.

4. Влияние некоторых биогенных стимуляторов на рост и размножение клеток в условиях культуры ткани". Труды института экспериментальной биологии АН Каз ССР, т.У I, 1970 ( в печати).

Основные положения работы доложены:

на I-й научной конференции по вопросам закономерностей индивидуального развития и генетики с/х животных в институте экспериментальной биологии АН Каз ССР, 1967, Алма-Ата; на юбилейной научной конференции молодых ученых института экспериментальной биологии АН Каз ССР, 1967, Алма-Ата; на научно-производственной конференции по применению эндокринных препаратов в животноводстве, посвященной 75-летию со дня рождения акад. М.М.Завадовского, 1967, Москва.

