

БИОЛОГИЯ

ПОДПИСНАЯ НАУЧНО-ПОПУЛЯРНАЯ СЕРИЯ



1982/7

Е.А.Лурия

УЗОРЫ НА СТЕКЛЕ



ЗНАНИЕ

НОВОЕ В ЖИЗНИ, НАУКЕ, ТЕХНИКЕ

НОВОЕ В ЖИЗНИ, НАУКЕ, ТЕХНИКЕ

Серия

БИОЛОГИЯ

7/1982

Издается ежемесячно с 1967 г.

Е. А. Лурия,

доктор биологических наук

УЗОРЫ

НА СТЕКЛЕ

Издательство «Знание» Москва 1982

ББК 28.05
Л 86

ЛУРИЯ Елена Александровна — доктор биологических наук, старший научный сотрудник Института эпидемиологии и микробиологии им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР. Работает в области иммунологии, занимается культивированием клеток вне организма. Она автор 70 научных работ, в том числе двух книг. Эта брошюра — ее первая научно-популярная работа.

Рецензенты: **Евгеньева Т. П.**, доктор биологических наук, **Кокорин И. Н.**, доктор медицинских наук,

Лурия Е. А.
Л86 Узоры на стекле. — М.: Знание, 1982. — 64 с. — (Новое в жизни, науке, технике. Сер. «Биология»; № 7).
11 к.

В брошюре рассказано о поведении клеток кроветворной ткани внутри организма и в тканевых культурах, о целенаправленных миграциях клеток внутри взрослого организма, взаимодействиях между однотипными и разнотипными клетками, обмене сигналами, влияющими на размножение клеток и на развитие их потомков, о работах, которые в настоящее время широко проводятся во многих лабораториях в нашей стране и за рубежом.

2001020000

ББК 28.05
57.029



Узоры на стекле

С тех пор как существует человек, в нем живет желание познать окружающий мир и самого себя. «Люди приходят и уходят. Их идеи и дела остаются». И теми фактами и идеями, которыми располагает современная наука, человечество обязано многим поколениям безымянных и знаменитых исследователей, отдавших свою жизнь борьбе за раскрытие Истины...

Когда-то в середине XVII века Антони Левенгук долго и терпеливо шлифовал и обтачивал стекла, чтобы получить линзы, увеличивающие предметы во много раз. Наконец, он добился успеха: его линзы стали так же хороши, как у лучших мастеров Голландии. Левенгук, комбинируя линзы друг с другом (а эта мысль ему первому пришла в голову), сделал микроскоп, прибор, который помог ему ясно увидеть «самые мелкие» предметы. Он — Антони Левенгук — был первым человеком, который сумел увидеть «невидимое». Он открыл целый мир, о котором раньше и не подозревали.

Изобретение микроскопа, сделанное 300 лет назад терпеливым и любопытным торговцем мануфактуры в Голландии, имело грандиозные последствия, о которых меньше всего подозревал сам изобретатель Антони Левенгук.

Создание микроскопа перевернуло все старые представления о живой природе и привело к расцвету таких наук, как микробиология (наука о микробах) и цитология (наука о клетке). Но этот труд лег на плечи других поколений исследователей. Сидя у себя в кабинетах, они отправлялись в долгие и опасные путешествия в страну «неизвестного». В истории микробиологии много трагических событий. Исследователи за свою любознательность расплачивались жизнью, неви-

димые микроорганизмы несли им смерть. Чтобы доказать правоту своих идей, ученые заражали себя микробами... заболевали, выздоравливали или погибали... Но подвиг исследователя не только в этих героических опытах, а в долгих годах бесплодного труда, когда редко вспыхивают искорки удачи.

В истории цитологии, для которой истоком служит тот же левенгуковский микроскоп, нет, пожалуй, таких трагических событий, как в истории микробиологии, но вместе с тем нельзя сказать, что цитология развивалась спокойно. И те успехи, которые достигнуты за полтора века существования этой науки, поистине удивительны: сейчас известны строение и свойства всех типов клеток одноклеточных и многоклеточных организмов. Многое удалось изучить при помощи электронного микроскопа, который увеличивает объект уже не в тысячи, а в сотни тысяч раз. Изучено тонкое строение клетки и ее составных частей, выполняющих специальную сложную работу, которая не всегда под силу даже современному химическому заводу. Многое стало известным, но еще большее остается неясным и загадочным.

Что знали о клетке, когда ее в первый раз увидели в микроскоп? Ничего. Увидеть клетку — это не значит понять ее. То же самое происходит, если мы посмотрим на фотографию животного, о котором никогда ничего не слышали раньше. По неподвижному изображению мы не можем судить ни об образе жизни, ни о привычках этого существа, ни об его отношении к себе подобным и к другим видам. И чтобы изучить его поведение, надо за ним понаблюдать. Но как же наблюдать за клеткой, которая входит в состав того или другого органа, а органы объединены в организм?

А что, если попытаться выделить клетку и поддерживать ее жизнь вне организма? Микробиологи со времен Пастера научились поддерживать жизнь микробов и грибов в пробирках, но им навстречу шла сама природа. На мокрых стенах деревянного дома, на кусках хлеба, забытых в ящике стола, на отварной картошке, которая долго лежала в тарелке, на старых пнях и на земле часто вырастают видимые глазом колонии грибов и бактерий, развившиеся изначально из одной клетки. Эти колонии различаются и по цвету и по форме: одни желтоватые, другие белые или зелено-

ватые, с ровными или неровными краями. По цвету, форме колоний и по их микроскопическому строению можно судить об их природе. А изучая условия, при которых они растут в природе, можно создать подходящие возможности для их размножения и в лабораторных пробирках.

Этим и занимались «охотники за микробами» — последователи великого Луи Пастера... Причем культивировались не только болезнетворные микробы, но и «полезные», синтезирующие ферменты, витамины и другие вещества, которые используются при приготовлении продуктов питания.

Что касается культур плесени, то и они оказались полезными: один из видов такого грибка вырабатывает мощный антибиотик пенициллин, открытый А. Флемингом, Х. Флори и Э. Чейном (Англия) и спасший миллионы жизней...

...Сейчас культуры некоторых грибов и бактерий разводятся в огромных чанах-культиваторах. И проводится это для получения тех или иных веществ в промышленном масштабе. О таких культурах можно сказать много интересного... но вернемся к клеткам и обратимся к первой попытке культивирования клеток животного вне организма — к опытам американского ученого Гаррисона.

Чтобы клетки были в любой момент доступны микроскопическому наблюдению, их необходимо выделить из организма и поместить в прозрачный стеклянный сосуд. При этом сразу возникает много вопросов: сможет ли клетка жить и размножаться в отрыве от организма, в искусственных условиях, в контакте со стеклом, на «грубой» питательной среде и как защитить ее от опасностей внешнего мира? Гаррисон поместил клетки в капельку питательной жидкости на поверхности стекла. А чтобы оградить их от внешних влияний, стекло с клетками защитил сверху другим стеклом с вышлифованной лункой, и полученную камеру, для того чтобы не проходил воздух, замазал парафином.

В своих опытах Гаррисон помещал клетки головастика в каплю лимфы лягушки. Увиденное им превзошло всякие ожидания: клетки не только выживали, но двигались и размножались. Интересно, что в самых первых культурах исследователь увидел развитие

нервных клеток, а они, как показали последующие десятилетия существования тканевых культур,— одни из самых капризных объектов культивирования. Опыты Гаррисона привлекли внимание ученых — его современников и вызвали большой интерес.

И если Гаррисона можно считать писнером клеточных и тканевых культур, то настоящий создатель метода выращивания клеток вне организма — известный американский ученый и хирург Алексис Каррель, получивший Нобелевскую премию за разработку сосудистого шва.

Но почему хирург-экспериментатор вдруг обращается к культурам ткани — области, которая была в те времена похожа больше на алхимию, чем на науку? Каррель занимался проблемой пересадки органов. Его вдохновляла идея замены поврежденного органа здоровым. Свои исследования по пересадке он начал с того, что вырезал орган у животного и через короткий промежуток времени снова возвращал его животному, у которого был иссечен этот орган. Свои опыты он проводил на собаках. Отрезанную у собаки лапу он через несколько минут пришивал на старое место. Сшивал сухожилия, кожу, сосуды. Конечность приживалась, питающая ее кровь снова бежала по сосудам и через несколько недель собака уже могла наступать на пришитую лапу, а потом и бегать. Гораздо хуже получалось, если собаке пересаживали не свою, а чужую лапу. Почему-то такая лапа сначала приживалась, а через две недели — отторгалась. Каррель считал, что, совершенствуя хирургическую технику, он сумеет преодолеть эту трудность. Он без устали снова и снова пересаживал собакам чужие почки, лапы и т. д., но, несмотря на все его упорство, ничего не получалось. Ему и в голову не приходило, что, каким бы искусством ни обладал хирург, чужой орган все равно не приживется, и организм отторгнет его, и сделают это клетки, отличающие «свое» от «чужого».

Кроме совершенствования своей и без того виртуозной техники пересадок, Карреля волновала судьба выделенного из организма органа. Ведь такой орган до момента пересадки надо как-то поддержать в жизнеспособном состоянии. Каррель начал с того, что пропускал жидкость, содержащую питательные вещества, через сосуды изолированного органа, это давало возможность поддержать жизнь изолированного органа, но... лишь в

течение не дней, а часов. Но, может быть, жидкость, которой Каррель «питал» орган, несовершенна и, чтобы подобрать лучшие питательные смеси, проще начать не с культивирования целого органа, а с его кусочков? Тогда, наблюдая за ростом клеток, можно будет судить о том, насколько хорош тот или иной состав питательной смеси.

Так, в недрах хирургии зародилась первая в мировой науке лаборатория тканевых культур. Прошли годы, Каррель и его сотрудники создали прекрасный метод, позволяющий длительно культивировать ткани, но это их нисколько не приблизило к решению основной волновавшей их проблемы — пересадки органов...

Первые опыты Карреля по культивированию клеток относятся к 1910 году. Он и его сотрудники обеспечили подбор условий для длительного выживания и размножения клеток и тканей вне организма. Культуры Карреля, полученные из сердца зародыша цыпленка, поддерживались в его лаборатории свыше 30 лет, т. е. в течение времени, намного превосходящего срок жизни курицы. Эти блестящие результаты были получены за много лет до открытия антибиотиков и создания ультрафиолетовых ламп, убивающих споры грибков и микробов, которыми так богата окружающая среда. А клетки, которые обычно находятся под защитой организма, попав в пробирку, оказываются совершенно беспомощными перед лицом этих врагов. И заражение культуры микробами или плесенью всегда расстраивает культурщиков и на их языке называется — «прост», который однозначно говорит о гибели клеток в культуре и приводит в трепет самых закаленных исследователей. Но недаром Каррель был хирургом и знал правила стерильной работы, без которых невозможно как оперировать, так и заниматься культурой ткани.

Культуры ставились в специально подготовленных комнатах — боксах, которые по своей чистоте не уступают операционным. Перед тем как войти в бокс и начать работу, помещение тщательно пропаривали, для чего ставили на огонь сосуд с водой, которая кипела, испарялась и вместе с мелкими пылинками, находившимися в воздухе, осаждалась в виде капель на стены. Вот в такой бане и работали первые, «культурщики». Они одевались в стерильные темные халаты и шапки и дышали через несколько слоев марлевой маски. В те вре-

мена укоренилось представление, что клетки боятся света, и поэтому работать надо не в белых, а в черных халатах.

Каррель и его ученики сумели путем соблюдения строгих правил асептики победить грибков и микробов и сделать жизнь культур необыкновенно долгой...

Чем же они кормили клетки, что было их питательной средой? Культуры Карреля ставились в так называемом плазменном сгустке, который наносили на стекло или на дно специального флакона. Плазменный сгусток служил не только питательной средой, но и опорным субстратом, по поверхности которого росли клетки. Сгусток получали так: сначала из сердца петуха брали кровь, разливали ее по охлажденным пробиркам и центрифугировали, в результате чего жидкая часть крови — плазма собиралась в верхней части пробирки. Эту прозрачную, чуть желтоватую жидкость использовали для постановки культур. Другой составной частью питательной среды был куриный эмбриональный сок или экстракт. При добавлении нескольких капель эмбрионального экстракта плазма сворачивалась и превращалась в желеобразную массу, внутри которой и росли клетки...

В таких условиях клетки не только увеличивались в размере, вступали в контакт друг с другом, но и быстро размножались, и в результате из небольшого числа высаженных клеток вырастало много клеток, которым было тесно в маленькой капле — плазменном сгустке. И если вовремя не принять мер, культуры обречены на гибель. Как же спасти их и продлить им жизнь?

Похожую картину мы видим на грядках огорода, когда тесно друг к другу поднимается зелень моркови или салата. Чтобы обеспечить растениям условия для роста, их пропалывают и часть из них выдергивают из земли. Но из плазменных культур нельзя удалить часть клеток, т. е. разрядить их. И все-таки выход есть.

Начнем с примера. Осенью (раз в несколько лет) разросшиеся кусты пионов выкапывают из земли, и корневище разделяют на несколько частей, и затем каждое сажают в подготовленную землю, где на следующий год поднимается молодой куст пионов, а еще через год он покроется шапками белых или розовых цветов. Таким способом можно поступать и с культурами, разрезая плазменный сгусток, в котором растут

клетки, на несколько частей и пересаживая каждый кусочек по одному в новый сосуд в свежую питательную среду, где клетки найдут все необходимое для своего размножения. И так бесконечное число раз.

Конечно, культуры с самого начала своего существования вызвали оживление в научном мире и привлекли к себе большое внимание. Но занимались культурами только энтузиасты, которые не боялись ежедневного скрупулезного труда в борьбе за самостоятельную жизнь изолированных клеток. Постановка и поддержание культур клеток требовали от ученого не только большого терпения, но и искусства. Клетки капризны и ранимы, и трудности начинались с первого момента — с выделения их из организма. Культуры требуют постоянной подкормки, пересадки и наблюдения... и большого хорошо налаженного лабораторного хозяйства. Поначалу они многих привлекли, а затем отпугнули трудностями. Однако нашлись и горячие приверженцы, которые продолжали свою скрупулезную работу в надежде, что природа, которая строго хранит свои тайны, отодвинет перед ними завесу неизвестного. И сейчас мы можем с любовью и благодарностью вспоминать имена исследователей, которые изучали поведение клетки в условиях культур. Это Рода Эрдман в Германии, Борис Эфрусси во Франции и Александр Авроров, Александр Максимов, Александр Тимофеевский в России.

У тканевых культур долгая и трудная история, вместившая в себя много человеческих судеб нескольких поколений исследователей.

Мне повезло: моя первая встреча с культурами состоялась очень давно, в раннем детстве, в сорок четвертом или в сорок пятом году. И хотя с тех пор прошла целая жизнь, тот день ярко проступает в памяти. И я, снова переживая его радостное волнение, снова чувствую себя замерзшей шестилетней девочкой, которая пришла в мамину лабораторию...

После метели в белый зимний день цветы казались особенно яркими и теплыми и каждый раз удивляли меня своей красотой. Да неужели они настоящие? Не склеенные из желто-оранжевой прозрачной бумаги, а самые настоящие, выросшие летом цветы.

— Нравятся? — спрашивала меня Софья Михайловна. — Подойди сюда, ты мне не мешаешь. Вот садись, — говорила она и освобождала круглый белый

стул-вертушку, а сама что-то ловко и быстро делала с ровными квадратными стеклышками, разложенными на столе. Открывала пузырек и наносила палочкой на стекло желтые тягучие капли. И пахло чем-то особенным: лесом, смолой, кедровыми шишками.

Лаборатория! Я люблю сюда приходить. В лаборатории все такое блестящее, красивое. А сколько самых разных стеклянных вещей: палочки, баночки, бутылки большие и маленькие, стаканы, огромные полоскательницы с водой и даже стеклянная комната. Вот туда-то мне больше всего хотелось войти. Там за стеклянной стенкой работала мама, и я могла только смотреть на нее через стекло. Первый раз я даже не узнала ее. Да, немудрено! Как узнать, если она вся завернута в белое: длинный халат, косынка, а нос и рот закрыты марлей и открыты только руки и глаза. Но она не смотрит на меня, глаза опущены вниз на коричневый блестящий стол, где около голубого огня толпятся разные стеклянные пузырьки. Раз! Мама открывает пробку и набирает воду в тонкую стеклянную трубочку. Два! И горлышко бутылки мелькает над огнем и пробка на месте.

— Леночка, не отвлекай маму,— говорит Софья Михайловна,— видишь, она работает — подкармливает культуры. У нее во флаконах культуры растут, а мы с мамой о них заботимся. Делают хирурги операцию, больные кусочки мозга вырезают и нам сюда приносят. Мы эти кусочки мелко бритвой режем и в каррельки сажаем. И они у нас живут там и растут много-много дней, а мы за ними ухаживаем и в микроскоп смотрим. Вдвоем все с мамой делаем, а потом на наши культуры врачи смотрят, ведь это им помогает больных лечить.

И пока мы разговаривали с Софьей Михайловной, мама кончила подкармливать культуры, сняла марлевую маску и косынку и вышла из бокса, провела рукой по своим волосам и спросила:

— Сильно замерзла, Елка? Мы тебе сейчас чаю дадим с сухарями, а потом будешь с нами работать.

А потом мы убрали со стола, и Софья Михайловна откуда-то принесла большого белого петуха.

— Сейчас у него кровь возьмем — культуры подкармливать,— и перевернула петуха на спину.— Видишь, он заснул. Все готово, Лана. Можете начинать.

Мне стало страшно, и я зажмурилась, а когда открыла глаза, увидела ровный ряд пробирок, наполнен-

ных чем-то красным, и петуха, который выглядывал из белой холщовой сумки и норовил клонуть стекло. Вечером мы возвращались с мамой домой, и в кармане у меня лежали подарки: пузырек для культур — каррелька, похожая на утенка, две стеклянные палочки и воронка.

...Почти сорок лет занималась мама культурами. Знала их и любила. А осталось что? Кипа растрепанных рукописных листов, статьи в старых журналах, фотографии, лабораторные дневники и ящики с препаратами. Стоило ли отдавать культурам столько лет, вкладывать в них столько сил, уходить спозаранку, засиживаться допоздна?

Стоило! Безусловно, стоило. В результате работы Ланы Пименовны Липчиной стал известен ряд закономерностей роста нервных клеток, образующих опухоль мозга. И хотя выводы, которые она сделала, можно уложить всего на нескольких страницах, каждый, работающий с культурами, знает, что за каплей нового знания стоят месяцы и годы работы. Мамина любовь к культурам не ушла из жизни вместе с ней, а перешла к ее ученикам и, наверное, ко мне. И часто мне не хватает маминого совета, ее интуиции и тонкого понимания культур...

Тканевые культуры открывают перед исследователем перспективы поистине замечательные. Области их применения расширяются из года в год. И на страницах ведущих биологических и медицинских журналов мы видим сведения о закономерностях жизни и поведения клеток, полученные благодаря использованию культур. Заснято много километров киноплёнки, на которой зафиксирована жизнь клеток. Замедленная (цейтраферная) съемка 6 кадров в минуту проводится при помощи микроскопа, постоянно нацеленного на внутреннюю поверхность маленького сосуда, в котором культивируются клетки.

Первый фильм о культурах я смотрела в начале 60-х годов в старом уютном конференц-зале с уходящими вверх рядами скамеек. Шло заседание научного общества с докладами, обсуждением, вопросами. Все устало от затянувшейся конференции, кто-то уже вставал, собираясь уйти, как вдруг показали фильм. Мелькали кадры, клетки двигались, делились, встречались и расходились. Плёнка была черно-белая, экран маленький.

Но с каким напряженным вниманием следил зал за клеточными микрособытиями, а ведь среди зрителей были люди, занимавшиеся культурами много лет и уже смотревшие такие фильмы. Так как заснятая пленка прокручивалась в обычном темпе, все события на экране происходили в 240 раз быстрее, чем в действительности. Клетки распластывались по стеклу, выпускали и вбирали в себя отростки, в их цитоплазме перемещались и дрожали какие-то мелкие частички. Клетки подползали, выпускали отростки, ощупывали друг друга, знакомились, будто обнюхивались, а затем уже устанавливали связь. И вдруг какая-то круглая клетка-метеор мчалась на всех парусах, не замечая ничего на своем пути, она энергично расталкивала мирные группы неторопливых отросчатых клеток, а иногда даже перепрыгивала через них, быстро проскальзывала по их поверхности и исчезала.

Бегут кадры, и на экране уже другое место стесненного дна сосуда, и мы становимся свидетелями удивительного клеточного таинства. Спокойная, малоподвижная клетка, которая держится вдали от густой клеточной толпы, вдруг округляется, ядро растворяется в ней, оно уже неотделимо от цитоплазмы, затем внутри клетки что-то пенится, будто вскипает, и мы видим хромосомы — маленькие четкие фигурки, похожие на короткие палочки и запятые. Все они, как по команде, выстраиваются парами в виде узорной полосы — пояска и замирают. Секунда — и становятся отчетливо видны тончайшие нити, которые лучами спускаются к пояску с двух противостоящих полюсов клетки. И я вижу, что все палочки и запятые, подхваченные нитью, быстро и плавно на одном дыхании подтягиваются к полюсам. Следующее мгновение — исчезли нити, а палочки слились в сплошную массу, и на месте старой клетки уже лежат тесно друг к другу две новые. Они уже успели отгородиться друг от друга тонкой перегородкой, но еще не разошлись.

Мелькают черно-белые исцарапанные кадры, клетки вздрагивают и подпрыгивают, как герои первых фильмов, снятых на заре кинематографа. На пустой кадр сверху надвигается какой-то огромный прозрачный язык. Его края пульсируют, меняют очертания, и я вижу прозрачный пласт, который заполняет весь экран. Приглядываясь, замечаю, что пласт состоит из множества

клеток, которые тесно, не оставляя пустых мест, идут, как единый организм.

Кончилось все шквалом аплодисментов. Даже самые образованные зрители воспринимают фильм о культурах, как чудо. Что же говорить о начинающих и неискушенных?

С тех пор мне привелось посмотреть еще несколько фильмов о клетках, снятых более совершенно, и каждый раз, когда в демонстрационном зале гасят свет, всех охватывает радостное ожидание... Как и в художественном кино, сначала идут титры, говорящие нам о названии и «студии», в которой заснят фильм, затем перечисление «действующих лиц» и «исполнителей». Это нормальные здоровые клетки, выделенные из различных частей тела, злокачественные — опухолевые клетки, микробы и вещества, действующие на поведение и функции клеток.

В лаборатории Юрия Марковича Васильева был заснят фильм о движении нормальных и опухолевых клеток.

На экране ровное поле, образованное вытянутыми веретеновидными клетками, полученными из зародыша мыши и размножившимися в культурах. Клетки уже прекратили делиться, им тесно, и они дремлют, почти неподвижные. На клеточный слой наносится рана, острой бритвой снимают клетки, и получается свободное квадратное окошечко. И мы видим, как клетки с краев устремляются в рану и затягивают ее тонким войлоком. Минута, и снова перед нами дремлющий однородный слой, и мы не можем отыскать границ раны — она зажила.

Новая культура и знакомое окошечко раны. Но почему клетки не затягивают ее, почему остаются на своих местах, как приклеенные? Они тянут во все стороны свои отростки, как тысячи рук, но тщетно. Все объясняется тем, что в среду введено вещество, которое как бы ослепило клетки, лишило их способности ориентироваться, чувствовать «рану» и перемещаться из полей с высокой клеточной плотностью в поля — с низкой.

Другой отрывок фильма рассказывает нам о безобразных полчищах опухолевых клеток, которые жадно захватывают территории, не вступают в контакт друг с другом и не подчиняются никаким законам клеточного коллектива,

Долгое время фильмы о культурах оставались черно-белыми: ведь живые клетки прозрачны и бесцветны, и казалось, что цветной фильм мало что даст. И все же в конце концов появились и цветные фильмы. Один такой фильм был о «пожирающих» клетках — о мечниковских фагоцитах. (Сценарий и съемки Мая Корна.) Безвредный краситель окрасил мелкие микробные тельца в ярко-красный цвет, и мы стали свидетелями захватывающей картины борьбы клеток с микробами... Сначала на экране появляются блуждающие отростчатые клетки — фагоциты, потом красные точки микробов, которые склеиваются в комочки и прилипают к поверхности фагоцитов. В следующий момент микробы обволакиваются цитоплазмой, и... они уже не снаружи, а внутри клетки. Потом они распадаются и перевариваются. Правда, мы забыли сказать, что в самом начале на микробов действовали защитными белками (анти-телами), а потом обезвреженные бактерии уже были захвачены и переварены клетками-мусорщиками — фагоцитами...

После просмотра фильмов о культурах складывается впечатление, что изолированная клетка ведет себя, как простейший одноклеточный организм, она передвигается с места на место, выпускает отростки, похожие на щупы, способна к размножению, она различает сигналы (определенные вещества) и перемещается по направлению к их источнику, она «дышит», питается, живет и умирает.

Многие годы исследователи следили главным образом за поведением индивидуальных клеток в культуре. Их интересовало движение, изменение формы, деление клеток, захват чужеродных частиц. Все эти события было невозможно проследить и понять до эры клеточных культур. Потом ученые поняли, что клеточные взаимодействия, которые можно наблюдать в таких условиях, представляют собой не менее интересную область для исследования. И, по сути дела, каждая культура, состоящая из сотен тысяч клеток, напоминает уникальную систему, составные части которой находятся в тесной динамической связи. Если клеток много, они существуют уже не каждая сама по себе, а объединяются в клеточный коллектив, многоклеточный организм, живущий по своим законам, где клетка является лишь частью целого.

Некоторые типы клеток больше, чем другие, нуждаются в клеточном коллективе и могут передвигаться и размножаться, только находясь в составе клеточных пластов, им нужны клетки-соседи, окружающие их со всех сторон... Такие многоклеточные «организмы», возникающие в культурах, помогают проследить, правда, в весьма упрощенном виде, сокровенные законы, по которым построены ткани организма.

Приемы культивирования клеток изменялись в зависимости от тех задач, которые ставили перед ними различные области теоретической и практической медицины. Благодаря вирусологии родился метод монослойного культивирования, где клетки выращиваются не в плазменном сгустке, а на поверхности дна стеклянных или пластиковых флаконов и получают питательные вещества из жидких сред, в состав которых входят аминокислоты, витамины и ряд других биологически активных веществ. Такие среды были созданы в 40—50-х годах группой американских ученых (Е. Вильмер и Р. Дюльбекко), что сильно продвинуло вперед методы культивирования, расширило области их применения. Для культивирования начали использовать клетки, выделенные из тканей при обработке трипсином — ферментом, переваривающим белки, которые связывают клетки между собой. Клетки в таких культурах растут в один слой, почему и культуры получили название однослойных. На таких клетках исследователи размножают вирусы, которые используют для получения противовирусных вакцин. В культурах получают и изучают интерферон — вещество, которое клетки синтезируют и выделяют в ответ на вторжение вирусов.

По мнению одного из основателей современной вирусологии лауреата Нобелевской премии Сальвадора Лурия, использование культур привело к тому, что «были открыты сотни новых вирусов — так много, что некоторые из них до сих пор не удалось связать с какими-либо известными болезнями. Создалась возможность производства вакцин в промышленных масштабах. К началу 1960 годов только против полиомиелита было вакцинировано несколько сотен миллионов человек, и теперь во всех странах заболеваемость полиомиелитом резко снизилась».

Современные вирусологические лаборатории, получающие вакцины и интерферон, по широте размаха на-

поминают промышленные предприятия. В больших термостатах или термостатированных комнатах, в которых поддерживается нужная температура 37°C, на полках лежат ряды прозрачных плоскодонных бутылей, самые крупные из которых, пятилитровые, кажутся великанами рядом со 100-миллилитровыми маленькими флаконами. На дне флаконов белый налет, который видно невооруженным глазом — это клеточный слой. Клетки выращивают и в чанах-культиваторах с автоматическим перемешиванием и сменой среды в заданном режиме. В культиватор помещают микрошарики, которые образуют клетки: это позволяет увеличивать массу растущих клеток в культиваторе. Без клеточных культур сейчас немыслимо представить себе работу вирусологических лабораторий и институтов. В свою очередь, вирусология стимулировала создание различных синтетических сред для культур и организацию производства, где эти среды изготавливают в больших количествах и используют не только в вирусологии, но и в лабораториях, изучающих другие области биологии и медицины. То же самое касается производства посуды для культивирования. Около десяти крупных промышленных фирм, филиалы которых находятся в разных странах мира, выпускают сейчас все необходимое для культур...

С 1910 года «дерево жизни» тканевых культурросло и дало новые ветви, и, оглядываясь назад, можно проследить его историю — периоды бурного расцвета, надежд и разочарований. Но все-таки в истории культур побед больше, чем поражений. Сейчас культуры так многообразны и область их применения столь широка, что трудно перечислить основные биологические проблемы, которые ждут своего разрешения с помощью культур.

Культуры проникли и в лаборатории при больницах и клиниках и стали незаменимыми помощниками в подборе доноров для пересадки органов, в изучении действия на клетки лекарственных препаратов и в анализе наследственных заболеваний. Почти в каждой биологической лаборатории есть свой бокс, свои культуры. Похоже на то, что в ближайшее время культуры завоюют новые области для применения. Недавно была решена задача выращивания в культурах кожи, взятой от больных с ожогами, для того чтобы быстро нарастить ткань, которой можно закрыть обожженную поверх-

ность. Такой способ лечения ожогов оказался вполне успешным.

Однако как ни впечатляющи современные установки для культивирования и как ни важны уже полученные и ожидаемые в близком будущем результаты (например, наработка в культурах гормонов и чистых антител для использования в медицине), не эти направления сейчас больше всего волнуют культурщиков. С самого начала их не покидает надежда, что культуры помогут разгадать загадку клеточной дифференцировки — тех таинственных событий, которые приводят к образованию всех тканей взрослого организма из одной прародительницы: оплодотворенной яйцеклетки. Уже давно было замечено, что клетки в культурах часто «опрошаются», утрачивают свойства, отличающие клетки разных тканей, т. е. они как бы теряют свою дифференцировку. Но в культурах можно создать и такие условия, при которых дифференцировка поддерживается или возникает вновь, например при изменении плотности клеток, выращивании совместно клеток разных типов или даже при добавлении в культуры определенных веществ. Вот почему культуры незаменимы при изучении дифференцировки клеток — одной из центральных проблем современной биологии.

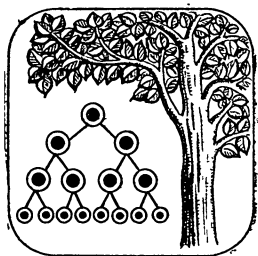
Для исследований в этом направлении пока нет нужды в больших культиваторах, работающих по специальной программе, за которой следят автоматы. Поэтому в лабораториях сейчас используют и самую новую технику, и приемы, разработанные еще Максимовым и Каррелем. В этой брошюре речь пойдет об изучении клеточной дифференцировки в кроветворной системе, о работах, в которых успешно применяют тканевые культуры.

Молодые исследователи, которые приходят в лабораторию, за один год знакомятся с многими тонкостями выращивания клеток и тканей, овладевают одним или несколькими методами постановки культур, и вскоре работа с культурами делается для них обыденным и привычным делом. При этом многие из них даже не подозревают, сколько трагических событий пережило старшее поколение культурщиков в конце 40 — начале 50-х годов. В те годы культурам предъявляли тяжкие обвинения: «Культуры не нужны ни для теоретической, ни для практической медицины; культуры представляют

собой искусственную упрощенную систему, которая наносит вред науке о целостном организме, культуры — лженаука, а результаты, полученные в культурах, — артефакт». Многие лаборатории тканевых культур были закрыты, и культуристки оставались без любимой работы... Я помню, как в нашем доме поселилась тоска: недомолвки, отрывки разговоров и мамины заплаканные глаза... Через год мама устроилась в другую лабораторию, где спустя несколько лет построила новый бокс и поставила новые культуры...

Мне хочется, чтобы молодые и начинающие знали о судьбах старшего поколения. Ведь мы, все работающие сейчас, многим обязаны тем, кто работал до нас — мы стоим на их плечах и используем их опыт и добытые ими знания. Без преемственности поколений невозможно заниматься научным поиском...

За окном бокса, в котором мы ставим культуры, меняются времена года, подрастают деревья, и по ним мы замечаем, как быстро течет время и как медленно продвигается наша работа. И когда в минуты разочарования и неудач меня одолевают сомнения, я беру в руки культуральный флакон и снова и снова, наверное в тысячный раз, вглядываюсь в удивительные тончайшие узоры, которые вырисовываются на стеклянном дне, когда клетки растут в культурах.



Она вытащила из кармана три ореха и сказала, что это волшебные орехи — в каждом спрятаны чудеснейшие вещи.

Древо жизни

В начале нашего века в Петербурге на Выборгской стороне жил и работал замечательный ученый Александр Александрович Максимов. Он читал блестящие лекции студентам Военно-медицинской академии. Когда Максимов в ладно сидящем на нем генеральском мундире и в сапогах со шпорами входил в аудиторию, все

замирали. Он поднимался на кафедру, открывал большие часы-луковицу и начинал читать и рисовать на доске цветными мелками. И пожалуй, никто другой не мог так увлекательно рассказывать о жизни клеток, как Александр Александрович Максимов — выдающийся ученый, опередивший на десятилетия свое время и заложивший фундамент науки о клеточном творении. Современники часто спорили с ним и не соглашались с его выводами и идеями. И понимало его работы всего несколько десятков человек, да и те были разбросаны по всему миру.

После лекций Максимов снимал военный мундир и надевал лабораторный халат. Вот тут-то и начиналась его «непонятная» работа — он ставил культуры и наблюдал за ними. Все, что он видел в микроскоп, он великолепно зарисовывал. Рисунки Максимова удивляют своей красотой и точностью. Максимов часами сидел за микроскопом и, сравнивая клетки, думал об их превращении из одной формы в другую.

Вот маленькая круглая клетка с круглым ядром и тоненьким едва заметным ободком цитоплазмы. Называется она «малый лимфоцит», живет в селезенке и в лимфатических узлах, сохраняется длительное время и в культурах. Эта клетка чуть больше красных кровяных телец — безъядерных клеток, эритроцитов, которые окрашивают кровь в красный цвет. Но почему? Почему лимфоциты видны почти во всех препаратах, приготовленных из разных органов: почему они встречаются и в печени, и в легком, и под кожей, и в костном мозге? Причем они обнаруживаются почти в каждом поле зрения! «Лимфоциты вездесущи!» — решает Максимов. И наверное, эта маленькая клетка, которую все считают конечным этапом развития — клеткой, не способной к размножению и обреченной рано или поздно умереть, не так проста. Не заложено ли в ней, как в нераспустившейся почке, как в непроросшем семечке, очень много possibilities удивительных возможностей. Конечно, сам малый лимфоцит не делится, но он может увеличиваться в размере и превращаться в крупную клетку — большой лимфоцит, способную к делению и чудесным превращениям. И столь разные клетки, как эритроциты и белые кровяные тельца — лейкоциты, являются далекими потомками лимфоцита. И не только они, но и фагоциты, способные заглатывать обломки мертвых клеток и частицы

краски, происходят от лимфоцитов, которые, по словам Максимова, представляют собой родоначальную клетку для всех элементов крови.

На основании своих наблюдений и выявления переходных клеточных форм Максимов составляет таблицу, в основу которой он ставит родоначальную клетку — лимфоцит. Эта схема кроветворения была встречена в штыки многими современниками Максимова.

— Нет! — говорили «дуалисты». — В основе кроветворения лежат два обособленных ростка: один для красной крови, другой для белой.

— Не два ростка, а три, — возражали «триалисты».

С тех пор прошло много лет. Уже 50 лет как А. А. Максимова нет на свете. Вокруг его имени ходят самые невероятные легенды, относящиеся к чисто внешней стороне его жизни.

С фотографии, помещенной в некрологе А. А. Максимова, на нас смотрят через стекла пенсне живые круглые глаза; темные волосы разделены на прямой пробор, а небольшие усы слегка подкручены кверху. Последние годы своей жизни А. А. Максимов провел вдали от родины; он жил в Чикаго, где заведовал кафедрой анатомии Чикагского университета. При этом он не потерял связь с отечественной наукой.

Несколько лет назад в ленинградском архиве Академии наук мы нашли несколько писем Максимова, адресованных Ивану Петровичу Павлову. На пожелтевших листах лежат ровные красивые строчки, написанные каллиграфическим почерком — рукой Максимова. Вот несколько отрывков из них:

«Глубокоуважаемый и дорогой Иван Петрович!..

...Вернувшись из тропиков к еще неоконченной зиме, я сразу заплатил дань отвратительному климату Чикаго, который чрезвычайно напоминает Петербург, сильнейшей простудой, от которой лишь медленно оправляюсь. Вот Вы пишете, что у Вас сотрудников хоть отбавляй, а у меня в этом отношении кризис. Все есть — кроме соратников. Просто не знаю, что и делать, хоть из России выписывай. А мою работу с культурами тканей без помощников никак не сделаешь. Всего лучшего. Желаю Вам и Вашим всякого счастья и благополучия... Преданный Вам А. Максимов» (письмо от 25 марта 1924 года).

И другое письмо:

«Жизнь наша здесь идет себе по-прежнему тихо и спокойно. Время летит быстро и незаметно за лабораторной работой. Мне, к сожалению, не хватает помощников, и я теперь усиленно и ультимативно требую себе еще одного препаратора, да кстати и прибавки жалования. Воспользовался тем, что соседний Университет, государственный Университет Иллинойса хочет меня переманить, предложив лучшие условия. Я пойти туда не пошел, но использовал конъюнктуру. Это здесь так всегда делается... Неприятно, что здесь в Америке нам, анатомам, очень трудно печатать работы с таблицами. В Европе этого не подозреваешь. Но факт тот, что американцы страшно скупы или вернее бедны для теоретической науки и особенно для издания журналов. Как это ни странно, но последнюю работу я взял да и отправил по старому испытанному адресу в Вирховский Архив... С сердечным приветом преданный Вам А. Максимов. Как у Вас обошлось с наводнением на Васильевском острове?» (письмо от 6 ноября 1924 года).

Писем Ивана Петровича Павлова, адресованных Александру Александровичу Максиму, пока не удалось разыскать. Возможно, что они хранятся в архиве Максимова в Чикагском университете. Но мы знаем, как высоко ценил Павлов Максимова — своего товарища и младшего коллегу по Военно-медицинской академии. Именно он, Павлов, представил в свое время Максимова к избранию в Российскую Академию наук.

Более 50 лет, прошедших с тех пор как были выполнены и написаны работы А. А. Максимова, — это достаточно большой срок, чтобы оценить их действительное значение. За эти годы наука далеко шагнула вперед, вооружилась новыми методами исследования и обогатилась новыми представлениями и идеями. 50 лет — это жестокое испытание для любого научного наследия. Чем же для нас являются труды А. А. Максимова? Пройденным этапом, важным для своего времени, но кажушимся наивным сегодня? Прописными истинами, которые полагается знать, но которые уже мало кого волнуют? Можно ли вообще говорить о его работах как о чем-то прошлом?

Для того чтобы ответить на эти вопросы, вернемся снова к трудам Максимова — статьям и учебникам, им написанным.

Максимов писал: «Из клеток, составляющих организм позвоночного животного, лишь немногие живут столько же времени, сколько весь организм. Громадное большинство имеет гораздо меньший жизненный срок. Просуществовав и профункционировав некоторое для разных клеток различное время, они дегенерируют и должны восполняться за счет запасных молодых элементов, способных к размножению и дифференцировке (специализации). Кроветворные клетки представляют собой как раз особенно недолговечные, очень энергично функционирующие и в соответствии с этим сравнительно быстро снашивающиеся и расходующиеся элементы.

Поэтому понятно, что уже в нормальном состоянии должно происходить и соответственное новообразование всех этих элементов, т. е. кроветворение...

...Лимфоцит является общей клеткой — родоначальницей всех элементов крови...

...Лимфоциты вездесущие в организме, блуждают всюду по тканям и циркулируют в крови и по мере необходимости могут быть быстро принесены в больших массах к тому месту, где они нужны. Попадая в благоприятные условия, они проявляют свою потенцию развития и продукты его получают очень разнообразными...»

Так писал Максимов, и его слова звучат вполне современно и теперь.

Приблизительно такая подборка цитат была приведена в докладе о научном наследии А. А. Максимова, сделанном на заседании старейшего русского научного Московского общества испытателей природы в 1974 г. Заседание проводилось в старом здании МГУ в 100-летний юбилей рождения Максимова.

После доклада развернулась оживленная дискуссия. Говорили не только о работах Максимова, но и об его личности. Вспоминали старый Петербург, и балет, и верховых лошадей, и, конечно, шпоры. Тогда на кафедру вышел наш ведущий гематолог, теоретик и врач, Андрей Иванович Воробьев. Аудитория смолкла, когда он сказал: «Каждому свое, каждому свое! Одни помнят, что Максимов носил сапоги со шпорами, а другие — что он открыл функции малого лимфоцита, что его сделало отцом современной гематологии». Раздались аплодисменты, все стало на свои места,

Вооруженные сложными методами исследования ученые шаг за шагом подтвердили все его представления, и на прочном фундаменте, который заложил Максимов, выросло огромное здание современной науки о кроветворении.

До 1961 года ученые не могли сказать, кто же прав — «дуалисты» или Максимов: эксперименты, которые помогли бы приблизиться к истине, еще не были поставлены.

В конце 50-х годов французский врач Ж. Матэ сделал первую в мировой медицине попытку лечить людей, пострадавших от радиоактивного облучения, пересадкой костного мозга. Операция прошла успешно, и больные выздоровели. Но почему при облучении необходимо пересаживать именно костный мозг, а не какие-нибудь другие ткани? Дело в том, что кроветворные клетки наиболее чувствительны к облучению.

Облученный костный мозг перестает кроветворить и не может обеспечить постоянную потребность организма в клетках крови. Полости костей, в которых располагается костный мозг, опустошаются, количество эритроцитов и лейкоцитов резко падает, на смену сносившихся клеток крови в кровотоки не выходят новые. В то же время другие органы более устойчивы к облучению: почки, легкие, печень, сердце продолжают нормально функционировать. Но организм обречен, и спасти его может только пересадка жизнеспособного костного мозга. Пересаженный костный мозг заселяет опустевшие места в полостях костей, где сидели собственные кроветворные клетки, размножается там и образует все новые и новые клетки крови. И наступает выздоровление.

Конечно же, смелый клинический эксперимент Матэ, спасший жизнь югославским физикам, пострадавшим при поломке реактора, возник не на пустом месте. В разных лабораториях мира многочисленными опытами на облученных экспериментальных животных была подготовлена почва для выхода в клинику. Уже были получены радиационные химеры: облученные животные, вылеченные пересадкой костного мозга. Уже было показано, что у таких животных все органы составлены из собственных клеток, а клетки костного мозга и крови — чужие, откуда и возникло название «химера» — существо, «склеенное» из нескольких различающихся существ. Не стоит напоминать о причудливых химерах, украшающих

собор Парижской богородицы, о сказочных драконах, о многоглавых змеях, о крылатых конях и о других творениях человеческой фантазии. Много веков «химеры» существовали только в сказках, легендах и скульптурах, и лишь в наше время они были созданы в жизни. Сначала в лабораториях получили крысино-мышинные химеры: мышь, живущая за счет поселившегося в ней костного мозга крысы, а затем в клинике, когда Матэ пересадил костный мозг от здоровых доноров облученным югославским ученым. Таким образом, и в эксперименте на животных, и в клинике было установлено, что пересаженный костный мозг поселяется в костях нового хозяина, приживается там, функционирует и спасает организм от неминуемой гибели.

Но все ли клетки костного мозга приживаются в новом доме, все ли встают на службу новому хозяину и сохраняют ему жизнь? Этот вопрос в 50-х годах не вызывал сомнений, и каждый исследователь ответил бы на него приблизительно так:

— При выделении и подготовке костного мозга клетки не травмируются, они жизнеспособны. Облученным мышам внутривенно вводят несколько миллионов живых клеток. Среди них зрелые клетки крови — эритроциты и лейкоциты, которые не способны размножаться, но готовые к своей работе в периферической крови, и молодые клетки, способные к делению и находящиеся на разных стадиях созревания. Именно эти клетки, а их в костном мозге большинство, поселяются в опустошенных костных полостях, размножаются там и дают потомство неделящихся зрелых клеток, которые выходят в кровь.

Такая точка зрения ни у кого не вызывала сомнений, и никто не думал о том, что кроветворение восстанавливается за счет каких-то гипотетических родоначальных клеток.

И так продолжалось до опытов канадских ученых Тилла и Мак Куллока, которые ввели облученным мышам не миллионы, а около 100 тысяч клеток. Через несколько дней мышей усыпили и стали изучать состояние их кроветворных органов — костного мозга и селезенки. Что же оказалось? Под тонкой капсулой селезенки, приподнимая ее, лежали бугорки. Такие бугорки в селезенке, безусловно, исследователи видели и раньше,

но мало обращали на них внимания и считали, что бугорки — проявление какой-то болезни. Тилл и Мак Куллоком изучили под микроскопом строение таких бугорков и увидели, что каждый бугорок содержит в чистом виде клетки одного из ростков кроветворения. Тех ростков, о которых столько спорили, но никогда не видели в чистом виде, а всегда в смеси друг с другом. Большинство бугорков состояло из эритроидных клеток, часть из лейкоцитов, находящихся на разных стадиях созревания, часть из гигантских клеток (источников кровяных пластинок, участвующих в свертывании крови). Оказалось, что число очагов пропорционально количеству введенных кроветворных клеток. Ученые сделали вывод, что каждый очаг представляет собой клон — семейство клеток, развившееся из одной стволовой клетки. Тут-то и оказалось возможным проверить, кто же все-таки прав: дуалисты, триалисты или Максимумы? Существуют ли разные стволовые клетки для каждого ростка кроветворения или же имеется одна универсальная для всех трех ростков?

Тилл и Мак Куллоком проверили это простым и изящным экспериментом. Они выделили один очаг, разделили его на две части. Одну часть исследовали под микроскопом и увидели, что очаг эритроидный, а из второй части приготовили клеточную взвесь, которую ввели облученным мышам. Что же они получили? Через несколько дней в селезенке таких животных опять образовались бугорки, и — это очень важно — не только эритроидные, но и колонии лейкоцитов и гигантских клеток. Значит, потомки той клетки, которая образовала эритроидный очаг в селезенке первой мыши, смогли образовать и клетки двух других ростков кроветворения в селезенке второй мыши. Отсюда следует, что в основе кроветворения лежит единая стволовая клетка, общая для всех ростков.

Так много лет спустя нашла подтверждение идея А. А. Максимова об единой родоначальной (или стволовой) клетке и ее роли в процессе кроветворения.

Стволовые клетки, открытые Тиллом и Мак Куллоком, не только функционируют в таких острых ситуациях, как пересадка в облученный организм, но и обеспечивают нормальный процесс кроветворения; они постоянно восполняют расход сносившихся клеток и, кро-

ме того, способны к самоподдержанию, т. е. сохранению своего количества.

Таким образом, мы можем представить себе кроветворную ткань в виде дерева, от которого отходят семь ветвей: первая ветвь — эритроидное кроветворение, вторая, третья и четвертая — лейкоцитарное кроветворение (здесь уместно напомнить, что лейкоциты бывают трех типов), пятая — обеспечивающая организм кровяными пластинками, необходимыми для свертывания крови, шестая — макрофагальная, производящая клетки-мусорщики, фагоциты, седьмая — дающая семейство лимфоцитов. В случае если какая-нибудь из ветвей будет обрублена, ствол обеспечит ее восстановление. Эти семь ветвей дерева жизни дают огромное и разноликое потомство, исчисляемое миллиардами клеток, каждая из которых выполняет свою сложнейшую работу. Красные кровяные шарики, насыщенные гемоглобином, разносят по телу кислород и передают его всем органам и тканям. И благодаря им кровь окрашена в красный цвет. Бьется сердце, перекачивается по сосудам кровь, и несметный поток эритроцитов и лейкоцитов спешит по большим и малым магистралям кровеносных сосудов.

По содержанию и соотношению различных типов лейкоцитов в крови можно судить о благополучии организма или о болезни. Каждый из нас держал в руках маленькую карточку — результат «анализа крови», взятой из пальца, и каждый знает, что лейкоциты бывают разные: эозинофильные, базофильные и нейтрофильные. Название свое они получили от сродства к кислым и основным красителям, смесью которых красят мазок крови на предметном стекле. Лейкоциты нафаршированы зернами, по цвету и форме которых они различаются между собой. Окрашенный мазок крови под микроскопом выглядит очень демонстративно и красиво: в нем сочетается богатство красок и совершенство форм. Клетки под микроскопом кажутся нарисованными рукой прекрасного художника.

Просматривая препарат, в клинической лаборатории определяют соотношение различных клеток крови и составляют формулу. Формула крови помогает врачу правильно поставить диагноз и назначить лечение.

Кроме круглых розовых эритроцитов и зернистых

лейкоцитов, рассматривая мазок крови, мы видим лимфоциты — маленькие клетки с плотным ядром и узким ободком цитоплазмы, которая красится в серо-голубой цвет и почти не содержит зерен. Это наш старый знакомый — «вездесущий» лимфоцит, о загадке которого размышлял А. А. Максимов. Я боюсь, что у читателя сложилось впечатление, что каждый лимфоцит — это стволовая кроветворная клетка. Разумеется, нет! Среди тысяч одинаковых лимфоцитов находится одна стволовая клетка. Среди тысячи одинаковых орехов только один кракатук, среди тысячи одинаковых семян только одно прорастет и даст небывалое растение, среди тысячи горошин лишь одна заколдованная... Стволовых кроветворных клеток среди одинаковых лимфоцитов ничтожно мало. Для чего нужны все остальные и чем занимаются они?

Начнем с того, с чего начали анатомы прошлого, — с описания мест обитания лимфоцитов, которые называются лимфоидными органами. На шее, под мышкой, в паху, под коленом, вдоль кишечника и во многих других местах располагаются бобовидные сероватые плотные тельца, наполненные лимфоцитами. Это лимфатические узлы. Их питают кровеносные сосуды, которые красной сеточкой выделяются на светлой поверхности узла. Кроме красных сосудов, лимфатический узел омывается удивительными, нигде больше не встречающимися в таком количестве «бесцветными сосудами», в них нет эритроцитов и зернистых лейкоцитов, а лишь одни лимфоциты. Прозрачная жидкость, которая течет по этим сосудам, получила название лимфы. Лимфа фильтруется через лимфатический узел и вытекает из него, неся лимфоциты, и в конце концов изливается в кровь. Для того чтобы получить представление о клетках, населяющих лимфатический узел, достаточно препаровальными иглами порвать тонкую капсулу и из белой массы, которая начнет вытекать через надрез, сделать мазок на предметном стекле, который затем окрасить красителями.

И под микроскопом мы увидим радующую глаз удивительную картину, от которой трудно оторваться. Заглянем в него! Вот наши знакомые малые лимфоциты — обознаться невозможно, их очень много и на мазке они встречаются гораздо чаще других клеточных форм. А это что? Рядом с малым лимфоцитом круглая клетка

с большим сочным ядром, окаймленным синим ободком цитоплазмы. Эта клетка в несколько раз больше малого лимфоцита, но все же по своей форме очень на него похожа и напоминает подросший малый лимфоцит. Назовем ее большим лимфоцитом. Присмотримся и увидим на стекле лимфоциты разных размеров, которые возникли, вероятно, в процессе превращения малый лимфоцит → большой лимфоцит. Впрочем, стрелку можно повернуть на 180°. Только по застывшим на стекле формам мы не можем судить о направлении процесса. Для этого нужны другие подходы, которые показали бы, что процесс может идти в обоих направлениях.

Кроме больших и малых лимфоцитов, под микроскопом мы видим замечательную клетку: плотное ядро оттеснено к периферии, цитоплазма распластанная и ярко-синяя, а в центре перед ядром светлый дворик. Эти богатые цитоплазмой клетки получили название плазматических. Но и эти непохожие на лимфоциты формы принадлежат к его семейству. Что они делают, долгое время оставалось непонятным. Безусловно, судя по их вспененной цитоплазме, они что-то синтезируют и секретируют. Вероятно, какие-то белки. Но какие и зачем? Впрочем, не ясно было назначение не только этих клеток и всех форм из семейства лимфоцитов, но и самих лимфоузлов, которые встречаются при вскрытии тела буквально на каждом шагу. История открытия функции лимфоцитов очень длинна и может далеко увести нас. Ее истоки мы видим в знаменитом споре И. И. Мечникова с К. Эрлихом, который продолжался несколько десятилетий. Не будем пересказывать точки зрения Мечникова и Эрлиха: это делали в популярной биологической литературе много раз. Напомним лишь, что Эрлих был одним из первых, кто заметил, что при введении в организм чужеродных белков образуются защитные белки, их нейтрализующие, и что каждое введенное белковое «тело» вызывает образование «антитела».

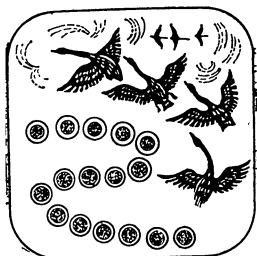
В начале нашего века врачи широко использовали сыворотку крови переболевших инфекционными болезнями (например, корью) для лечения больных. Сыворотка, содержащая антитела, помогала больному организму справиться с инфекцией. Антитела и их могущество признавались врачами 20—30-х годов. Уже были накоплены сведения о специфичности антител, стало известно, что антитела — разные, соответственно разным бел-

кам, в ответ на которые они образуются, и т. д. Но какие органы ответственны за выработку антител, оставалось загадкой до работ американского ученого Хариса. Харис изучал количество антител в лимфе, притекающей в лимфоузлы, и в лимфе вытекающей. Оказалось, что в вытекающей их значительно больше. Следовательно, антитела производятся в лимфоузлах. Но какими клетками? Клеток ведь в лимфоузле много.

В 1948 году шведская исследовательница Астрид Фагреус ввела в пятку кролика антиген и увидела, что лимфа, вытекающая из подколенного узла, богата антителами. В самом же лимфоузле произошло драматическое изменение—в нем яркими фонариками засветились плазматические клетки. Их стало очень много! И все они что-то синтезируют, пеняется. «Плазматические клетки вырабатывают антитела!»—решила Фагреус. Это открытие стало одним из решающих моментов в росте молодой науки — иммунологии, которая представляет в наши дни одну из наиболее активно развивающихся областей экспериментальной биологии. Чтобы рассказать читателю об этой увлекательной науке, надо популярно изложить материалы сотен научных конференций, симпозиумов, многих тысяч статей. Задача — трудновыполнимая. Кстати, учебные пособия по иммунологии быстро устаревают, и мы все еще не имеем ни одного исчерпывающего учебника по этому предмету.

Вкратце скажем основное, что следует знать читающему эту книгу. Известно, что плазматические клетки, вырабатывающие антитела, — основные рабочие единицы в противомикробном иммунитете. При отторжении лоскута чужой кожи (или органа) ведущая роль принадлежит не плазматическим клеткам, а малым лимфоцитам, которые образуют вокруг пересаженной ткани лимфоцитарный вал, закупоривают сосуды, лишают трансплантат питания и приводят его к смерти.

Таким образом, древо жизни стволовой кроветворной клетки обеспечивает не только кроветворение, но и защиту организма от инфекции и чужеродных белков. Оказалось, что среди каждой тысячи клеток костного мозга присутствует одна уникальная стволовая клетка, имеющая внешние характеристики малого лимфоцита. Эта клетка способна к замечательным превращениям и миграции.



Несет меня в Лапландию До-
машний белый гусь...

Чудесное путешествие

Ушло лето. На березах появились желтые пряди. Поля опустели... Птицы с криком собираются в стаи и кружат-кружат в сером низком небе. Скоро они улетят в жаркие страны, а весной снова вернутся в наши края. ...Перелет птиц, миграция рыб — удивительные явления. И уже много тысячелетий люди не перестают изумляться и размышлять о них, создавать легенды и сказки.

Но не меньшие чудеса ежеминутно и ежечасно происходят в нас самих: это массовые миграции малых лимфоцитов, явившиеся полной неожиданностью для ученых и врачей, которые еще 20 лет назад о переселении клеток ничего не знали.

Чтобы проследить маршрут клетки, необходимо ее пометить или иметь маркер, позволяющий отличать ее среди тысячи подобных, т. е. воспользоваться тем же самым способом, которым пользуются зоологи при кольцевании птиц. Надевая кольцо на лапку птенца, можно проследить зоны расселения птиц и маршрут их перелетов. Правда, с прекращением жизни птицы перестает действовать и маркер, который, разумеется, не передается потомству. К счастью, ученые, наблюдающие миграцию клеток, располагают маркерами, которые передаются по наследству, что позволяет судить не только о переселении самой меченой клетки, жизнь которой часто очень коротка, но и о судьбе ее клеток-потомков. Были выведены линии лабораторных мышей, которые имеют хромосомный набор, отличающийся от обычного. Если пересадить маркированные клетки облученному животному, можно без труда проследить за их судьбой — переселениями и превращениями. Те же самые возможности открывают различия в белковом составе, по кото-

рому могут различаться клетки разных организмов. Эти белковые маркеры позволяют проследить путешествия и превращения клеток независимо от процессов клеточного деления.

Специальные красители, флуорохромы, связываются с белковыми маркерами и окрашивают клетку в зеленый или красный цвет. Картина на редкость красивая и впечатляющая: светящаяся клетка на темном фоне, состоящем из других, не маркированных форм. И чтобы увидеть такую картину, достаточно заглянуть в люминесцентный микроскоп. Благодаря маркерам был изучен путь неутомимого странника — малого лимфоцита.

Прошли годы, и исследователи, живущие в наше время, могут составить карту и нанести на нее маршрут путешествия, которое совершает малый лимфоцит. Главная заслуга в этом принадлежит Джеймсу Говансу из Оксфорда. Маленькая круглая клетка (8 микрон в диаметре) проходит долгий и трудный путь: ведь наш организм для лимфоцита — огромное пространство, едва ли меньше, чем земной шар для перелетной птицы. Лимфоцит преодолевает большие расстояния: часть пути он проходит с током крови, которую сердце заставляет литься по сосудам, а часть движется самостоятельно.

Лимфоцит протискивается сквозь стенки сосудов и выходит в органы — в печень, легкие, но почему-то он не задерживается там и снова попадает в русло крови. В других органах — лимфатических узлах, которые разбросаны повсюду (под кожей, в паху, вдоль кишечника), часть лимфоцитов задерживается и начинает вести оседлый образ жизни, давать потомство и специализироваться.

Лимфоузлы и селезенка, которая, по сути дела, представляет собой большой внутренний лимфатический узел, содержат большие скопления лимфоцитов, тесно примыкающих друг к другу. Их роль в развитии лимфоцитов известна давно, но для чего существует еще один лимфоидный орган — тимус, часто расположенный загрудинно, над самым сердцем? В тимусе мы видим тоже большие скопления лимфоцитов. Если у новорожденного мышонка удалить тимус, то у выросшей мыши сильно упадут защитные силы, необходимые в борьбе с инфекциями. То же самое происходит и у мышей с врожденным недоразвитым тимусом: эти животные слабы и не могут сопротивляться инфекционным болез-

ням, как нормальные мышцы того же возраста. Зачем же нужен тимус? Не в нем ли образуются защитные белки — антитела? Нет, не в нем: в тимусе в отличие от лимфоузлов и селезенки не встречаются плазматические клетки, способные к синтезу антител.

Так зачем же лимфоцит отправляется в длительное и опасное путешествие? Какова цель его странствий? И что с его потомками происходит на Новых Землях, на которые поселяются колонисты, покинувшие свой дом — Костный Мозг? В чем таится смысл чудесного путешествия маленьких клеток?.. И действительно ли лимфоцитам необходимо преодолеть огромные расстояния и найти Желанные Острова, чтобы дать потомство клеток-воинов.

Как и перелетные птицы, лимфоциты выживают далеко не все, так же, как и птицы, они стремятся к далекой цели и выводят потомство, достигая ее. На Острове под названием Тимус лимфоциты-путешественники, отправившиеся в путь из костного мозга, поселяются в «бухтах» между крупными эпителиальными клетками. И здесь они размножаются, мужают и превращаются во взрослых лимфоциты. Ученые называют их Т-лимфоцитами (буква «Т» — от слова «тимус») — говорит о месте их рождения и воспитания). Что умеют делать эти лимфоциты, которые по внешнему виду мало отличаются от своих родителей, которые когда-то отправились в путь и высадились на Острове Тимус, чем отличаются они от лимфоцитов, путь которых шел в обход этого острова по маршруту Костный Мозг — Лимфоузел? Останутся ли Т-лимфоциты в тимусе или отправятся снова в путь, как неугомонные странники?

Клетки, родившиеся и выросшие в тимусе, покидают его гостеприимную территорию и снова несутся с потоком крови в новые страны. Снова претерпевают невзгоды пути, опасности, которые подстерегают их на каждом шагу и, наконец, достигают островов, которые носят название Лимфоузлы. Здесь клетки-путешественники образуют свою колонию, они заселяют тимус-зависимые области. Рядом с колонистами, пришедшими из тимуса, находятся области лимфоузла, где живут и размножаются лимфоциты, миновавшие тимус и пришедшие сюда из костного мозга. Такие лимфоциты костномозгового происхождения называются В-лимфоцитами (латинская буква «В» — происходит от латинского Bursa

Fabricia, что в переводе значит «Фабрициева сумка»). Дело в том, что у птиц есть специальный орган Фабрициева сумка, которая служит промежуточным домом для лимфоцитов, вышедших из костного мозга и еще не попавших в лимфоузлы. В этом органе лимфоциты размножаются и получают специализацию, которая определяет линию их дальнейшей жизни. У млекопитающих Фабрициевой сумки нет, и трудно сказать, какой орган или ткань выполняет ее роль по воспитанию В-лимфоцитов.

Т- и В-лимфоциты, поселившиеся в лимфоузле, представляют собой клеточное войско, стоящее на страже и обеспечивающее защиту организма от возбудителей болезни. В этой армии клетки-защитники сильно отличаются друг от друга. Одни могут бороться с возбудителем скарлатины, другие — дифтерии, гетры — кори, четвертые, пятые... и нет им числа. Каждый лимфоцит может ответить только на один сигнал (на один чужеродный белок-антиген, а антигенов тьма). И что особенно удивительно, Т- и В-лимфоциты часто работают в паре — сообща. Т-лимфоциты узнают сигнал-антиген и передают сведения об этом В-лимфоциту, который после того, как получил команду от Т-лимфоцита, начинает размножаться и дает потомство клеток, образующих защитные белки-антитела. Эти защитные белки синтезируются в плазматических клетках, которые гораздо крупнее клетки-прародительницы — лимфоцита. Плазматические клетки похожи на раздувшиеся пузырьки. Они работают, как одноклеточные белковые железы, вырабатывающие на экспорт антитела. И все это происходит в лимфатических узлах. Плазматические клетки лишь перемещаются по узлу, но не выходят за его пределы, а защитные белки-антитела поступают в кровь и обезвреживают возбудителя болезни.

Некоторые лимфоциты не задерживаются в лимфоузле и отправляются вновь в кругосветное путешествие. Путь неосевших лимфоцитов по лимфоузлу занимает около 20—30 часов. Эти клетки снова попадают в кровь, проходят через сердце, снова высаживаются на материке, не подходящие для поселения, и, наконец, попадают в лимфоузлы, где они задерживаются, размножаются и часто дают начало семейству плазматических клеток-близнецов.

Обязательно ли малому лимфоциту, чтобы превра-

титься во взрослую Т-клетку, надо побывать в тимусе? Может быть, тимус действует на лимфоциты на расстоянии, например, выделяя вещество — гормон? Эту мысль высказал специалист по тимусу австралийский ученый Дональд Меткалф. Многие годы он пытался выделить тимический гормон, но, увы, безуспешно. И лишь несколько лет назад, это удалось сделать «на другом конце света» американскому ученому Алану Гольдштейну.

Тимический фактор был выделен, охарактеризован и назван тимозином. Если приготовить экстракт из тимуса теленка, разделить его на фракции, которые отличаются по своему белковому составу, и веществами каждой фракции обрабатывать клетки костного мозга, то через час среди них появятся тимоциты, несущие на своей поверхности характерные тимусные маркеры. Отсюда следует, что для превращения костномозговых лимфоцитов в Т-лимфоциты совсем не обязательно прохождение их через тимус. Гормон тимуса тимозин оказывает на лимфоциты в пробирке то же действие, что и окружение тимуса в целостном организме. Какое же значение имеет открытие тимозина? Без преувеличения — очень большое.

Введение тимозина животным, страдающим врожденным недоразвитием лимфоидной системы, приводит к увеличению числа Т-лимфоцитов, что обеспечивает восстановление защитных сил организма. На наших глазах тимозин пришел и в клинику.

В Москве во 2-м Медицинском институте под руководством Рэма Викторовича Петрова ведутся широким фронтом исследования, цель которых — разработать путем пересадки тимуса и введения тимозина лечение больных, страдающих нарушениями иммунитета. Тимозин уже зарекомендовал себя как мощное лечебное средство.

* * *

У стволовой кроветворной клетки своя длинная история, связанная с переселением по организму. В течение жизни организма стволовые кроветворные клетки три раза меняют место обитания. Первые стволовые кроветворные клетки появляются очень рано и располагаются вне зародыша в стенке желточного мешка.

Рассмотрим всю историю на примере куриного яйца.

Здесь следует напомнить, что куриное яйцо представляет собой яйцеклетку, снабженную питательными белками и множеством оболочек, которые оберегают ее от повреждения. Куриный эмбрион, развивающийся из яйцеклетки, питается за счет веществ желтка, вокруг которого формируется внезародышевый орган — желточный мешок. Рассматривая желточный мешок под микроскопом, мы видим нежную сеточку красных сосудов и белые тканевые островки. В этих островках стволовые кроветворные клетки дают потомство эритроцитов и лейкоцитов, необходимых для развивающегося организма. В островках рождаются клетки крови, которые тут же попадают в сосуды и отправляются в путь.

Проходят дни — растет зародыш, уменьшается желток, и охватывающий его мешок становится кожистым и грубым, и кроветворные клетки покидают его. Кроветворение вспыхивает в новом месте — в печени эмбриона, которая из желтоватой становится красной. Если в желточном мешке эритроциты созревали быстро, минуя отдельные стадии, как бы наспех, то в печени они «выпекаются» обстоятельно. Они мельче, чем эритроциты желточного мешка, и содержащийся в них гемоглобин отличается по своей структуре от гемоглобина первичных эритроцитов. В печени и желточном мешке образуются в основном красные кровяные клетки — эритроциты, а не лейкоциты. Кроме клеток крови, печень эмбриона синтезирует и выделяет в кровь основные сывороточные белки и среди них — один, характерный только для эмбриональной стадии развития, исчезающий после рождения и обычно не встречающийся во взрослом организме. Специфический эмбриональный сывороточный белок — альфа-фетопротейн, открытый советским ученым Гарри Израилевичем Абелевым, — синтезируют крупные клетки печеночного эпителия, среди которых вкраплены гнезда кроветворных клеток. Этот же белок образуется и в желточном мешке в тот период, когда там наблюдается активное кроветворение. Интересное совпадение! Что же альфа-фетопротейн — просто свидетель кроветворения или же его регулятор? Ответа на этот вопрос пока нет.

Синтез белка альфа в печени прекращается, угасает печеночное кроветворение и стволовые кроветворные клетки переселяются в третий дом — в костный мозг, лежащий в полостях костей. Кроветворение в костном

мозге поддерживается в течение всей дальнейшей жизни.

Но и во взрослом организме сохраняется способность стволовых клеток к переселению. Они постоянно выходят из костного мозга в кровь, мигрируют и оседают в тех костях, где в данный момент наблюдается нехватка стволовых клеток. Собственно на использовании способности стволовых клеток к переселению построено лечение лучевой болезни внутривенным введением костного мозга. Никакую другую ткань, кроме кроветворной или лимфоидной, нельзя пересадить в виде разрозненных клеток. Так, при нарушении работы почек проводят пересадку целой почки от здорового донора, а не разоб- щенных почечных клеток. Обособленные клетки почки не могут собраться вместе и построить функциониру- ющий орган, как могут это сделать кроветворные клетки, введенные в вену облученного животного или человека. Процесс кроветворения, начавшийся на опустошенной стро- ме, обеспечивается пересаженными стволовыми клетками, попавшими в подходящие условия. В этих случаях кроветворный орган (костный мозг) создается заново из двух неродственных составных частей: костно- мозговой стромы облученного хозяина и кроветворных клеток донора. Сосуществование стромальной и крове- творной ткани необходимо для осуществления и регу- ляции кроветворения.

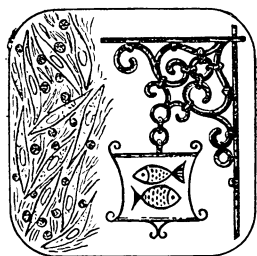
На фотографиях, полученных при помощи специаль- ного объемного микроскопа, можно видеть, как круглые кроветворные клетки заходят в углубления и ниши, об- разованные стромальной тканью. Они напоминают мне рыб, нашедших свой дом в пещере под корнями старой коряги.

Вот, собственно, и все, что я могу рассказать об удивительных переселениях клеток — о клеточных ми- грациях, которые так похожи на перелеты птиц и мигра- ции рыб. К сожалению, мы еще слишком мало знаем о причинах передвижения клеток, о том, как клетки узнают нужное микроокружение, к которому они стремят- ся. Сейчас мы знаем лишь некоторые их маршруты и превращения, которые происходят с ними в пути. Еще не пришло время отправиться вместе с клетками в чуде- сное путешествие и увидеть и почувствовать все изнутри, как удалось когда-то Карику и Вале, маленьким путе-

шественникам, побывавшим в лесу растений-гигантов, населенном огромными стрекозами, пауками и мухами.

...И снова наступила весна. Она чувствуется во всем и всюду. И хотя весна приходит каждый год, кажется, что она — чудо, совершившееся впервые. До чего же свежа и мягка трава! И прозрачные шелковые шали на деревьях, и свечки на соснах, и красные шишечки на елках. И белые резные колокольчики ландыша! До чего ж хорошо! Я сажусь на кочку, заросшую цветущей брусникой, и слушаю... Лес и поляна переговариваются птичьими голосами. Кукушка то далеко, то близко, и ее равномерное «ку-ку» тонет во влажном и душистом воздухе пробуждающегося леса.

Птицы вернулись в наши края, и у них сейчас, как у всего живого, самая радостная пора...



Давным-давно в одном Датском городке разразилась страшная буря. Ну и бед же она натворила!

Если бы буря
перевесила вывески

Клетки-путешественники, о которых мы уже рассказывали, как и прохожие в андерсеновском городке, ориентируются по каким-то одним им понятным вывескам, написанным на клеточном языке. Например, на воротах, ведущих в Тимус, написано: «Приглашаются стволовые клетки и костномозговые лимфоциты, желающие получить высшее образование и диплом Т-лимфоцитов. Вход лимфоцитам из лимфатических узлов и селезенки строго воспрещается», а у входа во владение Костного Мозга надпись гласит: «Приглашаются на вакантные должности стволовые кроветворные клетки, имеющие подходящее происхождение». Или: «Сегодня вакантных мест нет — обращайтесь через неделю», и, разумеется, существует приписка: «Вход зрелым эритроцитам и лейкоцитам крови запрещен. Клетки лимфоузлов и тимуса обратно не принимаются».

Страшно подумать, что произошло бы, если бы какой-нибудь клеточный тролль взял бы да перевесил вывески. Началась бы жуткая толкотня и сумятица, не было бы никакого порядка. А в результате организм остался бы и без клеток крови, и без защитников-лимфоцитов. Окажись вывеска «Фабрика, изготавливающая клетки крови. Приглашаются стволовые клетки», например, у входа в Почку или в Легкие, легковерные путешественники — стволовые клетки поверили бы... И что бы они нашли? Никаких условий для жизни и размножения. Куда уж там вырабатывать клетки крови, надо уходить, а куда? В Костный Мозг не войти, потому что там надпись «Здесь вырабатывается желчь». Не лучшая участь ждала бы и тех, кто хотел обучиться на Т-лимфоцитов. В Тимус им не войти: грозная вывеска не пускает: «Производится очистка крови от мочевины. Вырабатывается моча. Посторонним не обращаться». Мало того, в такой неразберихе клетки с «дурными наклонностями» (а среди клеток есть и такие) могут получить высшее специальное образование и занять важные посты в организме, а там и натворить всяких дел...

Думать об этом можно без конца, да в результате только одно расстройство! Ясно одно, клеткам для их размножения и созревания нужно побывать не в каком-нибудь месте, а в строго определенном органе. Этот орган создает условия для клеток-путешественников и решает их дальнейшую судьбу. В этом смысле Тимус неповторим и незаменим, Костный Мозг и Лимфоузел тоже. И микроокружение — микроклимат, действующий на территории тимуса, — сильно отличается от микроклимата всех других органов.

Вот об этом-то, пока буря не перевесила вывески, мы и поговорим. Но сначала немножко географии.

Географическая карта с синими реками и морями, с коричневыми рельефами гор и зелеными лесами и с изрезанными очертаниями материков, зовущая нас путешествовать, испещрена звучными и часто непонятными названиями. Условная карта организма, где красными линиями нанесены пути клеточных миграций, проследженные учеными, так же богата названиями тех «проливов и материков», мимо которых пролегал путь клетки. Почему же клетка-путешественница не прельстится пышным названием и мягким климатом живопис-

ных мест, мимо которых она проходит? Почему указатель, стоящий на ее пути, не может заманить ее поселиться в неподходящем краю? Клетка, привлеченная вывеской может, правда, ненадолго сойти с маршрута и осмотреть незнакомый край, но лишь как турист: побродить и снова отправиться в путь на розыски «городов», которые и представляют собой цель путешествия. Малый лимфоцит, покинувший Костный Мозг в поисках Тимуса, может побродить по лабиринтам печени, легко, но не поселится в них, а будет путешествовать по организму до тех пор, пока не достигнет Тимуса. В чем тут секрет? Как читает лимфоцит дорожные знаки и вывески, как понимает значение прочитанного и как принимает решение о своем дальнейшем пути?

На эти вопросы ответы еще не получены. И может быть, кто-нибудь из читающих эти строки сумеет раскрыть некоторые тайны путешествующего лимфоцита...

Для того чтобы принять участие в разгадке этой увлекательной истории, нужно вооружиться сложными приборами и, разумеется, знаниями. Но знания и приборы — только помощники исследователя. Поэтому очень важно сначала создать гипотезу, т. е. представить себе, как может обстоять дело, и это, в свою очередь, определит направление научных поисков. Попробуем ненадолго поставить себя на место лимфоцита (или другого путешественника), разыскивающего какой-то пункт по вывеске, и разберем варианты возможного поведения.

Разберем первую возможность. Каждый путешествующий лимфоцит может читать и понимать все вывески и выбирает только нужную. Для простоты представим себе московского мальчика, который впервые приехал в Ленинград. Мальчик хочет попасть в кино. Он идет по городу, смотрит по сторонам и читает вывески. «Продовольственный магазин» — нет, не то. «Книжки» — интересно! Загляну на обратном пути. «Зубоврачебная поликлиника» — э, нет!» И т. д. И наконец: «Кино» — начало сеанса в десять тридцать, «Три мушкетера. Серия первая». И мальчик бежит к кассам.

Другая воображаемая ситуация: лимфоциты неграмотны и не могут читать все вывески подряд (или могут читать, но не понимают их значения); они в силах прочесть и понять только одну вывеску, например, одни лимфоциты — «Тимус», другие — «Селезенка», а на

остальные вывески они просто не реагируют. И снова представим себе двух московских мальчиков, которые приехали на каникулы в Таллин. Один мальчик разыскивает аптеку, другой — булочную. У каждого в руке записки, на которой по-эстонски написано: «Аптека» и «Хлеб». Мальчики будут бегать по улицам до тех пор, пока не встретят по пути знакомую вывеску и не отыщут нужное учреждение. Впрочем, по дороге они могут развлекать себя чтением непонятных вывесок.

Читают ли лимфоциты вывески первым или вторым способом, пока неизвестно. Но уже достоверно показано, что они отличают «ворота», ведущие в лимфоидные органы, от других ворот. Так лимфоциты прикрепляются к выстилке мелких сосудов, проходящих через лимфатический узел. Вероятно, здесь и осуществляется распознавание органа и решается вопрос: «входить или не входить».

Теперь, покончив с вывесками, перейдем к главному — к неповторимому, уникальному микроокружению или микроклимату, который встречается только на территории специализированных кроветворных и лимфоидных органов и определяет судьбу кроветворных клеток и лимфоцитов.

Чтобы лучше представить себе смысл понятия «микроокружение», которое было введено несколько лет назад в науку о кроветворении, обратимся к примерам из жизни леса, так как именно в распространении растений и животных огромную роль играют местные условия, микроклимат, созданные растениями и животными-соседями, иначе говоря, живое микроокружение. После лесных пожаров черно и пусто в лесу: ни деревьев, ни кустов, ни травы. И не слышно птиц... Пройдет время, и зарастет обожженная земля травой и поднимутся на ней деревца-самосевки. Подрастут деревья, и в молодой роще сошьют гнезда птицы, а под ветвями спрячутся от лучей солнца те цветы и травы, которые любят тень... И снова потечет лесная жизнь... И если случится нам вернуться в веселую рощу через много лет, то мы не узнаем знакомых мест. Разрослись темные ели, и зачахли белые березы, и не видно больше их нарядных стволов. А на земле скучно: пропали высокие цветы и травы, не растет больше ягода земляника и смолкли птицы. Лес стал молчаливым и темным. Еловые ветки

закрыли небо, а земля покрылась желтыми иголками. И звери здесь другие живут... Так меняется лес и сменяют друг друга его обитатели. Одни из них любят солнце, другие тень, и каждому нужно что-то свое. Первые растения, поселившиеся на старом лесном пожарище, создают микроклимат для следующих поселенцев: деревьев, трав и зверей. И все идет своим чередом. И этот черед хорошо знают люди, которые любят лес. Лесник может вам показать такие места в своем лесу, и каждый, кому интересно, найдет записи об этом в простых и сложных книгах... Примеры о том, какой зверь предпочитает для поселения какие леса, можно приводить без конца. И по сути дела, они тоже будут сводиться к описанию необходимого микроокружения, перечислению тех условий местности, которые необходимы для жизни этого животного.

Но пора вернуться к кроветворным клеткам и лимфоцитам. Так какие же клетки создают микроклимат—характерную среду обитания для кроветворных клеток и лимфоцитов?

Начнем с костного мозга. Кроветворение в костном мозге происходит внутри костных пещер. Со стен пещер свешиваются рыбачьи сети, сплетенные ретикулярными клетками-ткачами, которые живут во тьме пещер. Золотая рыбка, попавшая в сеть, выводит здесь своих мальков. Вот, посмотри! Здесь стайка красных мальков, там — белых, а вон там — голубых. И эти мальки уходят сквозь сети и уплывают в синее море... Чтобы выбраться из костного мозга и попасть в кровь, клетки рыбки протискиваются через стенки сосудов, напоминающих по форме виноградную гроздь. Так какие же ландшафты — костные ли пещеры, рыбачьи ли сети, клубочки ли сосудов — создают неповторимый климат кроветворного микроокружения? Все ли они одинаково важны, нет ли среди них исключительных?

Несколько лет назад мы не могли бы четко ответить на этот вопрос. А сейчас можем попытаться. Исследователи, работающие над его решением, уже на подходе к манящим неприступным вершинам... Правда, все идут разными непроторенными путями и каждый прокладывает свою тропу. Мне хочется рассказать об этих путях — кружных, окольных и часто запутанных тропах.



Он в другой раз закинул невод,
Пришел невод с травой морской,
В третий раз он закинул невод..

О том, как прокладываются тропинки

Исследователей с давних времен интересовала возможность пересадок костного мозга в необычные («неподходящие места»), в которых костный мозг не встречается никогда, например, под кожу, под тонкую капсулу почки или селезенки. Что же происходит там с кусочком костного мозга, вынутого из костной трубки? Будет ли поддерживаться кроветворение в местах, не защищенных костью, вне костных пещер? Пересадим кусочек костного мозга под капсулу почки несколькими мышам и будем наблюдать за ними. Мы видим, как кусочек костного мозга приподнимает прозрачную тонкую капсулу и четко в виде красного бугорка поднимается над поверхностью почки. Через несколько дней к нему подрастают красные ручейки кровеносных сосудов, и питание обеспечено.

Посмотрим, что будет через неделю. Кроветворных клеток остается совсем мало, а ячейки «рыбачьей сетки», которую сплели ретикулярные клетки, выступают четко. Сеть опустела, и нет в ней больше золотой рыбки и ее мальков. Погибли они или ушли?..

Через десять дней смотрим другой кусочек. Почему он стал белым и твердым? Под лупой мы видим белые пещеры, неровные стены которых блестят, будто лед на солнце. Да и сами пещеры похожи на настоящие ледниковые. Образовалась кость! Но почему и из чего? И кто построил ее? И перед нами уже, тесня друг друга, толпятся новые вопросы... И для их решения надо ставить новые и новые опыты. Но не будем торопиться — нам надо проследить до конца судьбу пересаженного кусочка.

Пройдут дни, пробегут недели, и мы достанем следующий кусочек, который прожил месяц под капсулой почки. Что увидим мы? Цела ли кость? Да! И больше

того — костная пещера заселилась костным мозгом. Приплыла золотая рыбка, поселилась в рыбачьей сети, что натянута в костной пещере, и выводит мальков. Вот они! Красные, белые, синие...

Вот мы и повторили опыт, который впервые был поставлен около ста лет назад. И увидели ряд последовательно сменяющих друг друга красивых картин. И по этим картинам попытались представить себе цепь событий, которые происходят при пересадке кусочка костного мозга. Но мы шли по проторенному пути, и потому нам было так легко и просто... Но тем, кто сам прокладывает тропинки, надо обдумывать каждый шаг. Итак, перед нами ряд неподвижных картин: опустевшая сеть без кости, затем живые костные структуры и, наконец, кость с костным мозгом — маленький костномозговой орган. Из чего же образовалась кость? Из клеток, которые пересадили, или из местных клеточных форм, которые обитают под капсулой почки? Анализ неподвижных картин не дает оснований для четкого ответа на этот вопрос. Конечно, можно что-то предполагать, но не утверждать. Уже не раз этот коварный путь приводил к ошибкам и заблуждениям. Например, под микроскопом лежит препарат, в котором хорошо видны осколки клеток, мелкие и большие, и целые клетки. Картину можно истолковать так: мелкие кусочки складываются в целые клетки, и из «живого» вещества возникает клетка. Но если изменить направление воображаемой стрелки и повернуть ее на 180 градусов, кошмар рассеется и все встанет на свои места: на препарате мы видим разрушение клеток — их гибель, распад и дело обстоит так: клетка → ее осколки.

...За холодным стеклом аквариума диковинные рыбы: маленькие — синие с коротким хвостом, чуть покрупнее — синие с красными пятнами, и большие — ярко-красные с длинными и прозрачными плавниками. Маленький мальчик с восхищением рассматривает их:

— Мама, посмотри! Какие красивые рыбы: взрослые и их детки.

— Ну что ты, сынок! Это в одном аквариуме вместе живут три рыбьих семейства. И никакие они не родственники. Просто плавают вместе...

Вернемся к кости. Чья же она и какого происхождения? И как подступиться к решению этой загадки? Какой придумать эксперимент? К счастью, в конце

60-х годов, когда в нашей лаборатории (она находится на краю Москвы: улица Гамалеи, двухэтажный корпус во дворе налево) началась эта работа, в нашем распоряжении были чистопородные («линейные») мыши. Их вывели генетики в 40-х годах. Мыши внутри каждой линии — практически близнецы, одинаковые не только внешне, но и по всем простым и сложным признакам, в частности и по белковому составу — по белковым маркерам, о которых мы уже говорили. Поэтому лимфоциты, которые стоят на страже белкового постоянства организма и идут в атаку на все чужеродные белки — антигены, попадающие в организм, — равнодушно относятся к пересаженному лоскуту кожи, если он взят от мыши той же линии. Лимфоциты воспринимают эту чужую кожу как кожу своего организма и поэтому никак не реагируют на нее.

Если же взять две линии мышей (*A* и *B*) и пересадить кусочки кожи наперекрест, лоскут засохнет и отторгнется. Ведь лимфоцитов нельзя обмануть. Они следят, как коршуны, на незнакомый запах, плотным кольцом окружают чужестранцев и изгоняют их. То же самое произойдет и с пересаженным кусочком костного мозга: внутрилинейные пересадки пройдут хорошо, а межлинейные приведут к неудаче, и под капсулой почки останется лишь тонкий рубец... Но если получить потомство путем скрещивания мыши линии *A* с мышью *B*, то гибрид ($A \times B$) будет принимать как свое пересаженные кусочки органов от мышей обоих родительских линий. И это потому, что каждая клетка гибрида несет маркер и папиной, и маминой линии. Представим, что у мамы *A* все клетки — красные, у папы *B* все клетки — синие, а у гибрида клетки красные в синюю полосу или синие в красную полосу, что, впрочем, одно и то же, и для лимфоцитов такого сине-красного животного и красный и синий — это свои родные цвета, и они на них не реагируют. Но зато, пересаживая костный мозг от *A* на гибрид ($A \times B$), мы сумеем по маркерам узнать, чья строится кость и чей в ней поселяется костный мозг..

Вот, собственно, подход к решению задачи. А способы могут быть использованы разные... но не в них дело. Все дороги, по которым прошли московские исследователи, приводили к одному ответу: в описанной ситуации кость была построена из красных клеток, а кроветворные клетки, которые поселялись и размножались в кост-

ной раковине, были красные в синюю полосу. И под почечной капсулой, как оказалось, формируется удивительный химерный орган — красный дом, населенный полосатыми обитателями...

Следовательно, в пересаженном кусочке костного мозга присутствуют клетки, которые на новом месте строят кость и создают неповторимый микроклимат, определяющий рельеф местности и среду обитания для кроветворных клеток. Это какие-то строители костной ткани, и, может быть, не отдельные клетки, а какие-то клеточные группы — пары, тройки, четверки... Последнюю возможность долгое время трудно было исключить, потому что пересадки под капсулу почки костного мозга в виде разобщенных клеток не приводили к развитию кости. И уже слышались голоса: «Для образования кости необходимы надклеточные структуры, которые сохраняются только в кусочке». Но, может быть, дело в том, что разобщенные клетки после пересадки просто разбегаются? Надо как-то удерживать их на месте и не дать им разойтись. Но как? Попробовать поместить их в плазменный сгусток, а потом кусочек желеобразного сгустка пересадить? Но клетки уходили из сгустка. И на месте пересадки оставался рубец. И удерживать их удалось, только помещая в диффузионную камеру.

Диффузионная камера — это «садок» для клеток, подобный садку рыболова — большой плетеной из ивовых прутьев корзине, которую вместе с пойманными рыбами спускают в реку. Сквозь крупные щели в стенках корзины к пленным рыбам приходит свежая вода и планктон — корм для рыб. Рыбы сыты, не надо заботиться о них, и рыболов спокоен, что они никуда не денутся. Точно так же через микропористые фильтры, из которых сделаны стенки диффузионной камеры, из организма внутрь камеры поступают крупные и мелкие молекулы тканевой жидкости, и клетки, которые находятся в камере, получают питательные вещества. Правда, в отличие от рыб в садке рыболова, они могут не только жить, но и размножаться и специализироваться. И в камере, куда поместили один миллион разобщенных клеток костного мозга, образуется твердая белая пластина кости, спаивающая створки микропористых фильтров. Такую камеру (маленький плоский барабанчик), уже невозможно разнять: в ней поселилась кость, твердая обызвествленная кость, инкрустированная аппати-

том кальция, настоящая, ничем не отличающаяся от обычной. А кроветворных клеток около таких костей, разумеется, нет. Ведь стволые кроветворные клетки, путешествующие по организму, не могут протиснуться через мелкие поры фильтров и поселиться в камере возле кости.

Из опыта следует, что разобщенные клетки костного мозга могут строить кость, т. е. перенос микроокружения осуществляется не клеточными группами, а отдельными клетками. Клетками? Какими именно клетками? Ведь клеточные суспензии, приготовленные из костного мозга, содержат десятки различных клеточных форм. У каждой из них характерное строение и свое название. Среди них обширные и разномастные семейства близких и отдаленных потомков клетки-прародительницы — стволовой кроветворной клетки: многообразные ранние формы красного ряда и конечные формы этого ряда — эритроциты; представители всех поколений клеток белого ряда — лейкоциты; много другого клеточного народа — мечниковские «фагоциты» — «мусорщики», клетки, выстилающие сосуды, и клетки-ткачи, которые ткут сеть-каркас костного мозга и потому названные ретикулярными клетками (от слова «ретикулум» — сеть). Если приготовить из этого материала мазок и покрасить его тем же способом, как красят в клинических лабораториях кровь из пальца, а потом посмотреть под микроскопом, перед нашими глазами предстанет красивая картина. И опытный Врач-Гематолог посчитает клетки и напишет формулу, а Лабораторный Работник, который занимается какими-нибудь другими клетками, например кожей, скажет, посмотрев в микроскоп: «Ну и каша! И вы думаете, что в таком вавилонском столпотворении можно опознать именно те клетки, которые строят кость?» И будет прав.

Клеток-строителей кости мы не можем найти на препарате, потому что... не знаем их в лицо. И ломать голову над препаратом — занятие не только бесполезное, но и опасное... ведь иногда глаза могут отыскать не то, что есть на самом деле, а то, что хочется. Исследователю. Надо искать какие-то новые пути разделения клеток на группы, а затем проверять способность к костеобразованию каждой группы по отдельности. «Сложная задача, — сказал бы Опытный Гематолог, — в наши дни наука располагает способами чистого разделения клеток

костного мозга по формам, но форм слишком много. А те способы разделения, которые используются для анализа ствольных кроветворных клеток, вам вряд ли подойдут. Впрочем, попробуйте».

Во многих тупиковых ситуациях Исследователя выручает Случай. Иногда Счастливым Случай сваливается на голову совсем неожиданно, как звезда с неба, и вы не только не успеваете им воспользоваться, но не можете даже истолковать, понять его. И счастлив тот, кто, собирая грибы в лесу, не откинет носком сапога, как что-то ненужное, кусок серого камня с отпечатком доисторического растения...

— Ай-яй-яй! Проклятый пророст опять погубил мои культуры! Смотрите, на дне матраса опять выросли эти круглые колонии каких-то микробов или плесени, — огорченный Аспирант поднес к свету стеклянный плоскодонный флакон, и сочувствующие товарищи видели, что прозрачное дно матраса покрыто круглыми серыми пятнами и напоминает шкуру коня в яблоках.

— Не унывай, друг! В нашем деле это бывает. Работаешь еще не очень чисто. Вот и залетело что-то из воздуха, — успокаивал Аспиранта Лаборант, — ничего с тобой не случится — поставишь новые культуры. Посуда у нас есть, и получить костный мозг тоже не проблема. Вырезал бедренную кость морской свинки, очистил от мышц, обрезал концы, потом вымыл из костной трубки костный мозг, погонял через шприц туда-сюда, чтобы разбить кусочки на клетки, и профильтровал через фильтр, сделанный из капронового чулка, и все дела! Да что собственно я тебе рассказываю? Ты и сам, наверное, все помнишь. Вместе ведь делали в прошлый раз.

Но в новом опыте повторилось то же самое, и дно культуральных флаконов опять напоминало шкуру породистого коня.

— Безобразие! У нас плохо работает сушильный шкаф, он совсем не стерилизует посуду... — сокрушался Аспирант.

— Надо будет отдать флаконы в автоклав, — предлагал Лаборант. — Ни одного микроба не останется!

— Давайте зараженную культуру сюда, я хочу посмотреть, что это за пророст, — сказал Профессор и унес крапчатый матрас.

Боже мой, какую необыкновенную картину он увидел под микроскопом! Крупные нежные прозрачные клетки, переплетаясь отростками, образовали круглые мерцающие островки и острова, которые объединяли десятки, сотни, а может, и тысячи клеток — преломляющих свет блестящих чешуек.

«А что если каждый островок развился из одной клетки-прародительницы?! И тогда я вижу не просто скопление клеток, а истинные клеточные клоны,— мелькнуло в голове у Профессора. — Но невозможно, чтобы нам так повезло! А вдруг все же? Да-да в этом непременно надо разобраться...»

Вот так по воле Случая, в культурах костного мозга клетки сами собой разделились и дали однородное клеточное потомство крупных клеток веретеновидной формы. словно из горсти брошенных в землю разноцветных семян, всходы дали только семена настурции, и в конце лета клумба покрылась яркими красно-рыжими пятнами цветущих растений, каждый куст которых вырос из одного зернышка. А осенью на месте цветов завяжутся и созреют неровные угловатые горошины — семена, и, собрав их, мы сможем засеять настурцией весь сад, если, конечно, захотим...

То же самое произошло и во флаконе, куда были посеяны разобщенные клетки костного мозга: из многообразных по форме и свойствам клеток на стеклянном дне выжили и размножились клетки только одного типа, которые дали многочисленное потомство клеток-веретен.

«Постойте! Но что же тут особенного?— скептически улыбнется Опытный Культурщик. — Неужели вы не помните, что в культурах костного мозга, которые ставили в плазменном сгустке еще Алексис Каррель и Александр Максимов, через две недели вокруг кусочка образуются травовидная зона роста, состоящая из фибробластов? Да, именно фибробластов — «клеток-веретен», как вы их извоили назвать». — «О, нет! Разумеется, нет,— станете оправдываться вы. — Мы не забыли классических результатов. Напротив, яркие эмоциональные строки максимовских описаний справедливы и для тех картин, которые видим мы. Но Каррель и Максимов высаживали в культуру кусочки, а у нас культура разобщенных клеток костного мозга. А очаги фибробластов все-таки образуются. Повторяю, фибробласты не выселяются (им неоткуда выселяться), а возникают из ка-

ких-то клеток, которые плавали в клеточной суспензии костного мозга». — «Следовательно, вы полагаете что среди свободно лежащих клеток, которые легко вымываются из костного мозга, а именно кроветворных и макрофагов, есть прародители для фибробластов? И фибробласты в конечном счете происходят из стволовых кроветворных клеток? Ведь так получается», — добавит Скептик. «Простите! Постойте! И прежде чем делать вывод, послушайте несколько слов о наших колониях. Вот перед вами два флакона, в которые 14 дней назад мы посадили по 5 и 10 миллионов клеток костного мозга. На дне первого матраса выросло 53 круглых островка, которые можно разглядеть и без лупы, на дне второго — 99 островков. Заметим: в два раза увеличили число клеток и получили в два раза больше островков. О чем говорят эти цифры? Они дают нам основание предполагать, что каждый очаг фибробластов образуется из одной клетки и что концентрация этих клеток-родоначальников крайне мала и составляет приблизительно 1 на 100 000. Этих клеток так мало, что они затеряны среди тысяч других, спрятаны, как иголка в стогу сена. И мы пока что ничего не знаем о них: ни о происхождении, ни о свойствах... Впрочем, число очагов всегда легко посчитать, а это, в свою очередь, даст возможность узнать кое-что о «неуловимых» предшественниках, а клетки-потомки можно попытаться вернуть в организм и посмотреть, что получится...» — «Позвольте! Но почему очаги получились только у вас? Ведь в десятках лабораторий мира из клеток костного мозга ставят сотни — тысячи культур. И очагов не видел никто?» — не может успокоиться Скептик. «Ну... это просто повезло. Обычно берут либо слишком мало, либо слишком много клеток. Если взять мало — не вырастет ничего, если много — очаги сольются в сплошной слой».

Такой разговор можно было услышать в конце 60-х годов в нашей лаборатории на улице Гамалеи. А что было потом? Потом наши сотрудники доказали, что колония фибробластов действительно образуется из одной родоначальной клетки. Смешивая клетки костного мозга двух морских свинок, — самца и самки, по половому маркеру удалось показать, что одни колонии фибробластов целиком состоят из клеток самки, а другие — из клеток самца, смешанных колоний не было найдено. Если бы колония возникла при объединении нескольких

клеток, в культурах образовались бы и смешанные очаги.

Впрочем, Скептик и тут нашел бы, что возразить: «Ваши опыты еще не доказывают, что колония образуется из одной, а не из нескольких родоначальных клеток. Просто эти клетки объединяются друг с другом не как попало, а подбирают себе компаньонов того же пола. Разве вы не знаете, что клетки способны очень тонко различать друг друга? Я поверю только прямым доказательствам».

А для «прямых» доказательств есть только один путь — снять фильм, который запечатлел бы историю колонии на киноплёнку... Двое работали целый год, а фильм получился на несколько минут. Да и кадры какие-то размытые, и колонии прослежены только до двадцати клеток. Но главное все-таки удалось рассмотреть: в начале на экране была одна клетка, которая затем начинала делиться...



— Что это вы делаете, тетушка? — спросила принцесса, которая в жизни не видывала прялки.
— Пряду пряжу, дитя мое...

Вариация на тему веретена

Клетки-веретена, клетки-веретена... И, кажется, что нет им числа. Их нежные прозрачные мерцающие тела уже покрыли густым слоем стекланный пол стекленного дома, огромного для них зала, с прозрачными стенами. И лежат они на дне спокойного розоватого озера, из которого получают все, что им нужно для жизни. И делятся один раз в сутки. И живут во тьме термостата своей независимой жизнью, расталкивают друг друга, теснят, протискиваются на незанятые места стекленного дна, поселяются там, а за ними идет хоровод других. А на дне выступает рисунок, как на окнах узоры от мороза. И теперь, чтобы жизнь не затихала, чтобы снова рождались клетки-внуки и правнуки, клетки-веретена надо

снять с прозрачного дна красного озера и переселить в новые воды, в которых никто не живет.

Часы сложатся в дни, а дни в недели, и в термостате вместо одного матраса, в который когда-то посадили клетки костного мозга, вымытые из костных пещер, заблещат ровными стенками ряды стеклянных сосудов с плоским дном; в них налита красноватая среда, их круглые горлышки закупорены черными пробками. И все матрасы, как один: у них на дне тонкая вуаль, сотканная из клеток-веретен. Других клеток не найдешь — их там нет. И получилось как по-писаному: словно из горсти разноцветных семян всходы дали только семена настурции, они отцвели, на них завязались новые семена, и мы засеяли настурцией весь сад.

Вот и термостат до краев полон клетками-веретенами, и кажется, что он недовольно гудит и строго смотрит на нас своим единственным красным глазом-лампочкой. Ну ничего, старый друг термостат, потерпи чуть-чуть! Ведь только несколько дней осталось. Ведь ты большой молодец — держишь температуру хорошо — 37,5°C и никаких подскоков. Уже диффузионные камеры склеены и морские свинки отобраны. Вынут из тебя матрасы, снимут с них клетки-веретена и посадят их в десять камер — десять садков с дырявыми стенками, а камеры вошьют морским свинкам. И клеткам не надо будет больше ни термостата, ни красной солоноватой среды, ни стеклянного дна, ни нашего внимания и ухода. Через стенки камеры к клеткам будет приходиться все, что нужно для их питания и роста. И им будет там не хуже, а даже лучше, чем на дне красного озера. И удивляться тут нечему. Сколько лет природа потратила на то, чтобы получить морскую свинку — сложный великолепно слаженный организм? А сколько лет посвятили культуришки подбору питательных сред для клеток — гораздо меньше!

«Что вы собственно ждете? Что же может получиться из клеток-веретен? Вряд ли в камере вырастет что-нибудь, кроме веретен-внуков, правнуков и праправнуков», — вставит Скептик.

И снова бегут дни. Кажется, только вчера был понедельник, а сегодня уже пятница. И можно на два дня уехать из города и уйти в дальний лес, набрать оранжево-желтых купавок — лесных роз. У нас их еще огоньками называют. Брести без дороги и слушать птиц и

ветра шум, а потом устать, сесть у ручья на ствол упавшей осины и пить чай из котелка, который пролежал здесь всю зиму, а потом выйти на незнакомую поляну в лесу. И увидеть серую избушку с маленьким окном. Наверное, у стола старушка сидит, в руках у нее крутится деревянное веретено, и ровно тянется серая толстая нить, скрученная из мягкой, пахнущей медом и солнцем шерсти. И веретено будто живое: само нить вытягивает и накручивает на свой толстый бок, а бабушка просто задумалась, о чем же рассказать внучке сказку...

...Синий росток синего пламени и красно-золотистые тонкие стеклянные нити. И вытягиваем мы их из разогретого докрасна стекла. Дзинь! Просто-напросто запаиваем ампулы, в которых разлиты витамины для культур. Работа почти механическая. Раз — одна нить, два — другая, а ряд ампул не убывает. Но почему-то нам так нравится запаивать ампулы, делать послушным и мягким стекло и вытягивать тонкую стеклянную нить, будто стеклянную пряжу прясть...

Пора! Конец ожиданиям! Время истекло, и мы можем посмотреть, что выросло в камерах, в которые месяц назад мы посадили клетки-веретена, выращенные в культурах. Камеры — вот они! Лежат перед нами, как белые пуговицы размером с трехкопеечную монету. Мы осторожно подрезаем фильтр по кругу, чтобы отделить его от пластмассового кольца, берем пинцетом, хотим приподнять, но он не слушается и не сдвигается с места. И когда с большим трудом мы все-таки снимаем верхнюю створку камеры, то видим блестящую твердую чешую, похожую на льдинку... Клетки-веретена образовали кость! Значит, именно они — таинственные переносчики неповторимого микроклимата костного мозга, кроветворного микроокружения.

А как же контроль? Контроль у нас есть, но мы не успели еще рассказать о нем. Клетки-веретена из тимуса, селезенки и кожи росли в другом термостате. Да-да! В соседнем боксе — по коридору вторая дверь направо. Их также сняли со стекла и посадили в камеры, а камеры — морским свинкам. И кости ни разу не получились. Конечно, в камерах жили клетки, которые пряли нити и сплели рыхлую тонкую сеть. Но по сравнению с прочной костной сетью эта тонкая сеть похожа скорее на паутинку-невидимку.

И все же перед нами в открытой камере пусть маленькая, но настоящая кость. Как же устроена она? Да так же, как и другие обычные кости организма! Те же плотные переплетения нитей, на которые отложились кристаллы апатита кальция, сковавшие ткань и сделавшие ее твердой. А где же клетки-веретена? Сумеет ли мы их отыскать? В камере клетки-веретена вспомнили старое ремесло своих далеких предков и стали еще и ткачами: они не только вытягивают нити, но и укладывают тонкие волокна в правильные пучки, которые по сравнению с нитью кажутся огромными канатами, а потому канаты и нити сплетаются в надежную сеть.

Вот так строится в камере кость, но нет в ней костных пещер. Чтобы образовались пещеры, наверное, нужны красные ручейки кровеносных сосудов, только они, такие нежные и тонкие, знают, как пройти через кость, как накормить ее, и только по ним могут приплыть в кость кроветворные клетки-рыбки, которые поселятся в рыбацкой сети, что развешена в костных пещерах, и станут выводить здесь своих мальков: красных, голубых...

Ну что ж! Попробуем посадить клетки-веретена из культур костного мозга не в камеру-садок для клеток, из которого нельзя выйти и в который нельзя войти, а свободно — под почечную капсулу. Что же получится тогда? Получится ли кость, заселится ли она костным мозгом, окажется ли она подходящей средой обитания для стволовой кроветворной клетки и ее потомства, создаст ли она неповторимый микроклимат — кроветворное микроокружение?

Да! Под капсулой почки, куда посадили клетки-веретена из культур костного мозга, образуется не просто кость, а маленький костномозговой орган: в костной раковине теснят друг друга круглые кроветворные клетки. А сколько их! И красные ручейки сосудов бегут по белой блестящей поверхности кости и входят в ее недра.

А Контроль? С Контролем все в порядке. Под почечной капсулой, куда поместили клетки-веретена из культур селезенки, кости не получалось, но образовался маленький лимфоидный орган, в ячейках рыхлой сети лежат круглые клетки-лимфоциты.

Вот и получается, что в стеклянном матрасе клетки-веретена из костного мозга и селезенки выглядят одинаково, и отличить их невозможно, а при возвращении

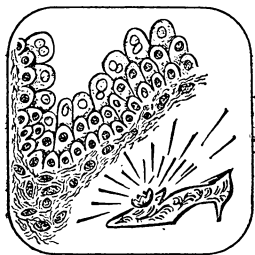
в организм они способны к чудесным превращениям. И сколько бы поколений клеток ни родилось в культуре, клетки-потомки сохраняют не только редкое мастерство своих далеких предков, но и способность переносить кроветворное или лимфоидное микроокружение. Этих клеток в исходной суспензии костного мозга совсем мало: всего одна на 100 000. И затеряны они среди многоликого клеточного народа, как иголка в стоге сена.

...Много спящих клеток покоится в недрах костного мозга, сохраняя свою молодость и неистраченную силу жизни. И проснутся они лишь в тот час, когда будут нужны. И не надо будить их без времени.

История семейства клеток-веретен напоминает во многих чертах жизнеописание стволовой кроветворной клетки и ее потомства. Разумеется, эти два почтенных семейства не состоят в родстве. Много лет ученые спорили об этом. Но теперь не осталось никого, кто бы не признавал этого четко доказанного факта. И современный Исследователь может представить себе схематическую картину кроветворной ткани так: переплетаясь ветвями, растут два дерева, одно — семейство стволовой кроветворной клетки, другое — семейство клеток, переносящих микроокружение. Второе дерево жизни, как и первое, несет на себе спящие почки, которые проснутся и дадут молодые побеги, если ураган обломает старые ветки. И не остановится жизнь, и не засохнет ствол. А в культурах мы можем наблюдать пробуждение спящих клеток-прародительниц, которые дают колонию клеток-веретен. Каждая клетка-колония образуется при размножении одной родоначальной клетки. В крупные колонии входит больше тысячи клеток-веретен, но история клеточного клона на этом не кончается: клетки одной колонии можно снять со стекла, пересадить на новый матрас и получить многотысячное потомство.

Под микроскопом клоны клеток-веретен, выросшие в культурах костного мозга, очень похожи друг на друга. Одинаковы ли они и по своим свойствам? И: может ли каждый клон клеток-веретен при пересадке под капсулу почки строить кость и переносить кровеносное микроокружение? Ответить на этот вопрос пока что трудно. Правда, пересаживать клоны по одному под капсулу почки после разных хитроумных попыток наконец удалось: их помещают в открытый конверт из пористого фильтра (который используется и для диффузионных

камер), кусочек фильтра складывают, как обложку для книги, клетки прикрепляются к нему, и их потом легко отыскать. В таком конверте в одном случае из десяти образуется кость, заполненная костным мозгом. Но почему только один клон из десяти переносит кроветворное микроокружение? Потому ли, что это отражает частоту костеобразующих клонов среди всех других, или же полученные цифры говорят только о числе удачных пересадок? Мы пока не знаем этого. Мы ничего не можем сказать и об однородности клонов в культурах селезенки, потому что еще не знаем, все ли они способны поддерживать размножение и созревание Т- и В-лимфоцитов. Многие-многие вопросы ждут своего решения.



— Я получил приказание от принца мерить башмачок всем девушкам в городе. Позвольте вашу ножку, сударыня!

Как отыскать Золушку?

Как?! Сделать изящную костную раковину в таком месте, где кости никогда не бывает? Возможно ли это?

— Конечно! — ответите вы. — Мы только что прочитали, что кусочек костного мозга, пересаженный под капсулу почки или в другое неподходящее место, дает костную пластину, пещеру или чешую. Зачем повторяться? Мы хорошо запомнили, что среди клеток костного мозга есть строители кости — клетки, переносящие кроветворное микроокружение. Очень хорошо! Но речь пойдет не о костном мозге.

Много лет назад анатомов поразила странная находка: в мышечной стенке мочевого пузыря, похожего по форме на кисет для табака, они иногда обнаруживали кость. Конечно, окостеневал не весь пузырь, хотя пластинки кости были твердыми и большими, так что не увидеть их было невозможно. Сначала все очень удивились, а потом заметили, что кость часто располагается около старых послеоперационных рубцов в местах травмы мочевого пузыря. И пришли к выводу, что ране-

ние мочевого пузыря почему-то часто сопровождается образованием кости. Но почему наблюдается такая странная связь событий, никто не знал и, вероятно, не пытался разгадать: просто занесли эту удивительную находку в медицинскую казуистику — длинный список чудес, которые можно встретить, изучая человеческое тело.

А в начале нашего столетия в Петербурге на Выборгской стороне в холодном каменном здании с толстыми стенами и гулкими коридорами А. А. Максимов, повторяя опыты старых итальянских ученых Сакердотти и Фраттина, перевязал кровеносные сосуды, питающие почку кролика, и через месяц увидел, что почка стала твердой, как камень, и вместо клеток, фильтрующих кровь и очищающих ее от мочевины, заполнилась костью с изрезанными краями, полостями и пещерами, заселенными костным мозгом. Не знаю, думал ли Максимов о причинах этого странного явления. Может быть, думал, но ничего не писал. Да ему, собственно, были не так интересны причины развития кости, как свойства костного мозга, который во всем изобилии клеточных форм заселял костные полости. Наблюдая появление кроветворных клеток в разные сроки после перевязки сосудов почки, Максимов строит свою знаменитую теорию кроветворения и рисует цветную таблицу происхождения клеток крови, в основу которой он ставит малый лимфоцит — родоначальную клетку для всех ростков кроветворения. Максимовскую схему кроветворения (с очень небольшими дополнениями) мы можем увидеть и сейчас — полвека спустя в любом учебном пособии по гематологии и цитологии.

А как же кость? В работах Максимова мы встречаем подробное и по-максимовски яркое описание кости, возле которой лежат кроветворные клетки, но не находим ни слова о том, откуда, собственно, взялась эта кость, и о роли костной ткани в кроветворении.

И только в начале 30-х годов американский хирург Чарлз Хиггинс понял причину образования кости в стенке мочевого пузыря и в почке с перевязанными сосудами. Хиггинс брал внутреннюю слизистую оболочку мочевого пузыря, образованную клетками эпителия, которые тесно, как кубики, положенные в несколько рядов, примыкают друг к другу, нарезал ее на мелкие кусочки и пересаживал под кожу экспериментальным

животным. И через 20 дней почти в 100 случаях из 100 под кожей прощупывался твердый костный шарик. Когда Хиггинс пересаживал кусочки мышечной стенки мочевого пузыря, кость никогда не образовывалась. Значит, дело в эпителии и для того, чтобы получилась кость, нужен эпителий. Так неужели эпителий мочевого пузыря окостеневает — превращается в кость?!

Такое дерзкое и невежественное допущение столь же невозможно, как предположение о том, что заяц, преследуемый волком, превращается в волка. Но, разумеется, Хиггинс ничего подобного и не утверждал. Он вырезал из-под кожи новообразованные кости, сделал из них тонкие 5—10-микронные срезы, срезы поместил на стекло, покрасил обычными принятыми в цитологии красками и стал рассматривать в микроскоп. Что же увидел он? Пересаженный эпителий чувствовал себя под кожей прекрасно! Он не только пережил пересадку, но и разросся, его клетки размножились, и от пластов эпителия внутрь окружающей рыхлой подкожной ткани отросли ветви и почки. А вокруг этих вращаний эпителия Хиггинс увидел молодую кость, которая лежала, почти примыкая к эпителию и повторяя все его изгибы, впадины и выпуклости. Если эпителиальный пласт заворачивался в трубку (а эпителий предпочитает при пересадках строить трубки), то вокруг него формировалась костная трубка, если эпителий рос в виде полого шара, то вокруг сплетался костный шар или круглая корзинка. Очевидно, эпителий мочевого пузыря не сам строит кость, а вызывает ее образование в окружающей ткани. И способен к этому только растущий эпителий — после пересадки или травмы, а не спокойный дремлющий эпителий стенки нетронутого мочевого пузыря.

Хорошо, а как объяснить образование кости в перевязанной почке? Хиггинс разобрался и в этом вопросе. В почке моча, которая поступает по специальным трубкам, изливается в лоханку (которая по форме напоминает таз-лохань, откуда и получила свое название эта полость), стенки которой выстланы тем же самым эпителием, что и полость мочевого пузыря. Пересаживая кусочки лоханки, Хиггинс получал разрастание эпителия и образование кости и наблюдал картины, неотличимые от тех, которые он видел при пересадках кусочков мочевого пузыря. В почке с перевязанными сосудами эпителий лоханки не гибнет, а, наоборот, разра-

стается (дело в том, что он получает питание от других сосудов), врастает языками в окружающую ткань и вызывает образование кости.

Процесс формирования кости переходным эпителием был назван костной индукцией. Эпителий вызывает, иначе говоря, индуцирует построение кости и выступает как индуктор костеобразования, т. е. дает сигнал: строить кость! Другие эпителии, например, легкого, кожи, кишечника, индукцию кости не вызывают, это уникальная способность эпителия мочевыводящей системы, который анатомы называют переходным эпителием.

Итак, в науке о клетках появился еще один термин — «индукция костеобразования», но, увы, ясности от этого не прибавилось. Во-первых, оставалось совершенно непонятным, каким образом эпителий отдает команду: строить кость! Во-вторых, как это ни странно звучит, неясно было, кто эту команду выполняет: местные ли клетки, лежащие в стенке мочевого пузыря, почки и рыхлой подкожной ткани, или какие-то неуловимые бродячие клетки, которые получают от эпителия сигнал и под влиянием его становятся специализированными клетками-строителями кости.

Следующий шаг был сделан в нашей лаборатории — эпителий мочевого пузыря посадили внутрь камеры и вшили ее морской свинке. Будет ли эпителий отдавать команду через непроницаемую для клеток стенку камеры, или фильтр окажется непреодолимой преградой, через которую сигнал от эпителия никогда не пройдет?.. И через месяц в некоторых камерах на наружной поверхности фильтра мы увидим тонкую чешуйку обызвествленной кости. Следовательно, эпителий мочевого пузыря выделяет вещество — индуктор, которое проникает через поры фильтра и индуцирует кость вне камеры, и для индукции совсем не нужен клеточный контакт эпителия с развивающейся костью.

Но кто же все-таки строит кость? И нет ли здесь какого-нибудь подвоха? Конечно, при пересадке эпителия мочевого пузыря во всех случаях образуется типичная кость, которую (можно поручиться!) ни один цитолог не отличит от кости скелета. Не таит ли в себе эта кость с неясным происхождением новую загадку? Что будет с ней, если сигналы от переходного эпителия перестанут поступать?..

Когда переходный эпителий от одной морской свинки пересаживают другой свинке, через десять дней образуется кость. Затем срабатывает иммунитет и чужеродный эпителий погибает, следом за ним исчезает кость — рассасывается. Значит, индуцированная кость — это не обычная кость с очень длительной жизнью. Перестал действовать индуктор, чары рассеялись, и кость пропала и даже «хрустальной туфельки» не оставила...

Как же нам определить, какие клетки под влиянием индуктора строят кость? По какой идти дороге, чтобы скорее найти разгадку? Может быть, посадить переходный эпителий в культуру и, добавляя к нему клетки из разных органов, посмотреть, в каких случаях образуется кость. Ведь мы сами убедились, что переходный эпителий отлично растет в культурах и уже подобраны оптимальные условия для его культивирования... Я пошла именно по этому пути. Но путь этот никуда не привел, и кости в культурах не получилось. От потраченных лет не осталось ничего, кроме деревянного самодельного шкафа, заполненного рядами препаратов из таких культур... Лишь годы спустя нам стала ясна причина неудачи: даже из кусочка костного мозга в условиях культур редко образуется кость. Костный мозг, который под капсулой почки строит прекрасную костную раковину, в культурах не дает ничего или лишь намеки на костную ткань — микроскопические клеточные сгущения, которые можно истолковать как разрушающуюся или строящуюся кость. Так или иначе культуры остаются пока неподходящим способом для осуществления индукции кости.

Нет, культуры мы выбрали напрасно. Лучше бы остановились на диффузионных камерах, находясь в которых, эпителий, как известно, подает сигнал «строить кость!» и которые создают все условия для построения кости, например при пересадке в камеры костного мозга. И камеры действительно помогли моим товарищам по лаборатории приблизиться к решению вопроса. В тех случаях, когда переходный эпителий мочевого пузыря они растили совместно с клетками, выделенными из тимуса или селезенки, в камерах вырастала кость. Но мы знаем, что суспензии клеток тимуса и селезенки почти столь же разнородные, как и суспензии, приготовленные из костного мозга: в них содержатся лимфоци-

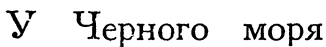
ты, большие и малые, макрофаги, а также клетки стромы (или каркаса). Кроме того, как уже упоминалось в предыдущей главе, среди клеток, попавших в суспензию, ничтожные доли процента (0,01—0,001%) приходятся на клетки-предшественники, которые образуют колонии веретен в культурах. И вероятнее всего, что именно такие клетки-предшественники и строят под действием эпителия кость, вконец, дают потомство клеток-ткачей, которые в присутствии переходного эпителия осваивают новое для них ремесло каменщиков — строителей костной ткани.

И правда, при одновременной подсадке в камеру эпителия и веретен из культур тимуса и селезенки образовывалась кость. Значит, клетки-веретена откликаются на приказ эпителия «строить кости!» и в течение двух недель формируют костную пластину. Так через много лет поисков удалось найти Клетку, Строящую Кость.

Но на этом история не кончается, и мы не сможем успокоиться, пока не поймем язык эпителия и не расшифруем слов его команды. Мы помним, что фея Питера Пэна Чинь-Чинь говорила на языке фей и по звону колокольчика можно было догадаться, в каком она настроении, но, кроме Питера, мало кто понимал ее слова. Растущий эпителий, безусловно, выделяет нечто, проходящее через мелкопористые стенки камер и сообщающее предшественникам веретен что-то очень важное, меняющее в корне их жизнь.

Но через поры фильтров могут проходить любые молекулы, даже самые крупные белковые молекулы — гиганты. Как же найти среди них уникальное вещество — индуктор, на который откликаются клетки, иначе говоря, гормон костеобразования.

«Новый гормон? Вы надеетесь выделить новый гормон? — улыбнется Скептик. — Помилуйте! По плечу ли вам такая задача?» Боюсь, что действительно не по плечу. Но что поделаешь? Мы ведь много лет связаны с переходным эпителием, а эпителий капризен и непостоянно разбираться в его секрете. Но кто знает? Вдруг повезет и мы поймем его язык. Если нам это не удастся, то кто-нибудь когда-нибудь и где-нибудь, опираясь на опыт наших ошибок и неудач, решит эту задачу и все поймет... Но почему-то, ставя новый опыт, я снова и снова надеюсь на успех, и каждый раз с нетерпением жду ответа,



Малколм Мур — очень известный в нашей области ученый. Он окончил колледж в Австралии, где выпустили в 1971 году книгу «Кроветворная клетка», в которой я

впервые прочитала новое тогда для нас слово «микроокружение». Потом Мур переехал в Америку, работает в Слоукетеринг институте и занимается близкими нашему сердцу вещами — культурами кроветворных клеток.

А на другой день после утреннего заседания мы сидим вокруг низкого неудобного столика в пресс-центре симпозиума и разговариваем с Муром. Доктор Мур, как и подобает уроженцу Британских островов, очень корректен. Он рассказывает о своих культурах и для ясности рисует в блокноте:

— Берете бедренную кость мыши и вымываете костный мозг прямо в матрас с питательной средой.

— Как?! Не разбивая кусочки и не фильтруя суспензию? — спрашиваем мы в один голос.

— Разумеется! — отвечает Мур. — Если мы разобьем кусочки костного мозга до отдельных клеток и профильтруем суспензию, то ничего не получится. Разобщенные клетки не сформируют на дне матраса подложки, которая необходима для того, чтобы в культурах поддерживалось кроветворение.

— О-о, — безмолвно удивляемся мы, и слова застревают в горле.

Да как же не удивляться, если об этой тонкости не сказано нигде, ни в одной статье, в которых описывается длительное кроветворение на подложке из костномозговых клеток, выращиваемых по методу, разработанному в Манчестере доктором Декстером. Так вот оно что! Вот почему никому из наших московских коллег не удалось пока воспроизвести эту систему.

— В наших культурах, — спокойно и уверенно продолжает доктор Мур, — кроветворение поддерживается довольно долго — около года. И я считаю, что успех обеспечивает хорошая клеточная подложка. Кроме клеток, которые были описаны вами, в нее, возможно, входят клетки, выстилающие сосуды. Они тоже имеют веретеновидную форму, и отличить их от истинных веретеновидных фибробластов можно будет при помощи антигенного маркера. Антитела против этого маркера выпускает одна из биологических фирм, так что работа по определению клеток, в сущности, элементарна. Как вы знаете, длительные культуры костного мозга возможны только при добавлении в питательную среду лошадиной сыворотки. Кстати, из каждых 100 серий сывороток, которые выпускает фирма «Гибко» (а ее сыворотки луч-

ше, чем у других фирм), для нашей системы пригодно только несколько серий. Это очень важное обстоятельство, — добавляет доктор Мур.

В конце разговора Мур показывает напечатанную на машинке таблицу, где сведены характеристики открытых в нашей лаборатории клеток-предшественников колоний фибробластов («веретен») кроветворных органов. Это результаты экспериментов Мура. Таблица доктора Мура до смешного похожа на нашу лабораторную таблицу! Только у Мура заполнены дополнительные графы, и составил он ее очень быстро: за год-два или даже скорее. Ведь он шел по проторенному нами пути... и в распоряжении доктора Мура и его сотрудников были готовые антитела против клеточных маркеров и многое другое, что ему предоставляют фирмы «Гибко», «Флоу» и другие, которые обслуживают биологические исследования.

После разговора с Муром мы, трое сотрудников лаборатории, сидим и молчим. И мы не знаем, радоваться надо или огорчаться.

Симпозиум давно прошел, и все разъехались по домам. Снова термостат доверху набит матрасами с культурами. И снова мы вытягиваем стеклянные нити из разогретого докрасна стекла. Дзинь! И новые идеи о новых подходах приходят в голову. И с удивлением и гордостью я замечаю, как подчас невозможное становится возможным и обретает жизнь...

ЛИТЕРАТУРА

- Васильев Ю. М., Гельфанд И. М. Взаимодействия нормальных и неопластических клеток со средой. М., Наука, 1981.
Дьюкар Э. Клеточные взаимодействия в развитии животных. М., Мир, 1978.
Иммуногенез и клеточная дифференцировка. М., Наука, 1978.
Касавина Б. С., Торбенко В. П. Жизнь костной ткани. М., Наука, 1979.
Лурья Е. А. Кроветворная и лимфондная ткань в культурах. М., Медицина, 1972.
Методы биологии развития. М., Наука, 1974.
Новые методы культуры животных тканей. М., Мир, 1976.
Пол Джон. Культура клеток и тканей. М., Медицина, 1963.
Фриденштейн А. Я., Лурья Е. А. Клеточные основы кроветворного микроокружения. М., Медицина, 1980.
Чертков И. Л., Фриденштейн А. Я. Клеточные основы кроветворения. М., Медицина, 1977.

СОДЕРЖАНИЕ

Узоры на стекле	3
Древо жизни	18
Чудесное путешествие	30
Если бы буря перевесила вывески	37
О том, как прокладываются тропинки	42
Вариация на тему веретена	50
Как отыскать Золушку?	55
У Черного моря	61
Литература	63

Елена Александровна Лурня

УЗОРЫ НА СТЕКЛЕ

Редактор *И. Тужилина*

Заведующий редакцией естественнонаучной литературы *А. Нелюбов*

Мл. редактор *Л. Готт*

Худож. редактор *Т. Егорова*

Художник *Н. Константинова*

Техн. редактор *И. Шабратова*

Корректор *Н. Мелешкина*

ИБ № 4589

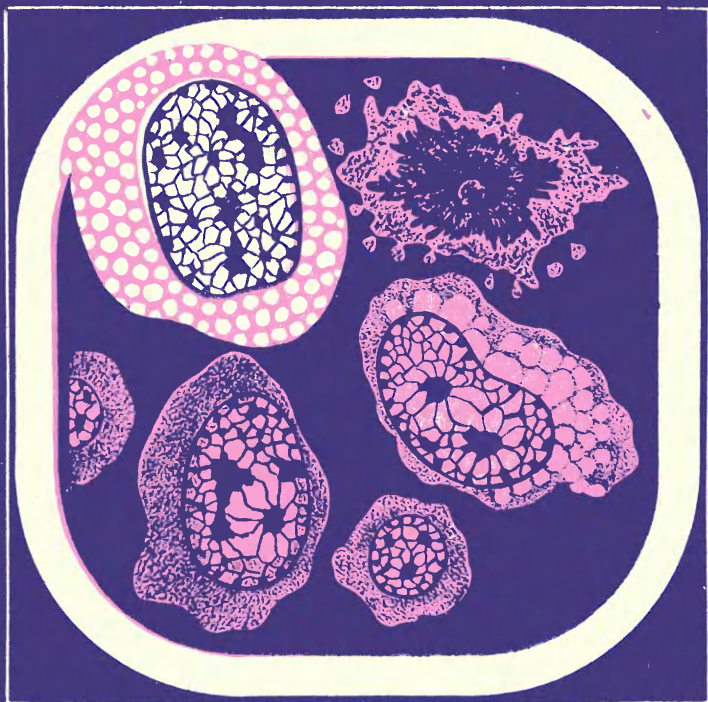
Сдано в набор 27.04.82. Подписано к печати 29.06.82. А 11195. Формат бумаги 84×108^{1/32}. Бумага тип. № 2. Гарнитура литературная. Печать высокая, Усл. печ л 3,36. Усл. кр.-отт. 3,57. Уч.-изд. л. 3,5. Тираж 38 320 экз. Заказ 872. Цена 11 коп. Издательство «Знание». 101835, ГСП, Москва, Центр, проезд Серова, д. 4. Индекс заказа 826107. Типография Всесоюзного общества «Знание». Москва, Центр, Новая пл., д. 3/4.

ДОРОГОЙ ЧИТАТЕЛЬ!

Брошюры этой серии в розничную продажу не поступают, поэтому своевременно оформляйте подписку. Подписка на брошюры издательства „Знание“ ежеквартальная, принимается в любом отделении „Союзпечати“.

Напоминаем Вам, что сведения о подписке Вы можете найти в „Каталоге советских газет и журналов“ в разделе „Центральные журналы“, рубрика „Брошюры издательства „Знание““.

Цена подписки на год 1 р. 32 к.



СЕРИЯ
БИОЛОГИЯ