

МЕХАНИКА РАЗВИТИЯ

Л. В. ПОЛЕЖАЕВ

**ОПЫТЫ ЭКСПЛАНТАЦИИ ЗАЧАТКОВ КОНЕЧНОСТЕЙ**

(Представлено академиком Н. В. Насоновым 22 X 1938)

Каков тот минимум факторов, который необходим для развития зачатка конечности после его детерминации?

На стадии хвостовой почки у зародышей амфибий зачаток передней конечности локализован на боку, позади жабр, вентральнее пронефроса. Он состоит из соматоплевры и эпителия. Позднее из соматоплевры выделяются мезенхимные клетки, которые оседают на эпителии и группируются в линзообразный зачаток. На этой стадии между эпителием и мезодермой врастают пигментные клетки, делается явственной базальная мембрана, а также весь зачаток начинает иннервироваться. Далее объем зачатка конечности увеличивается, затем в нем обособляются скелетные закладки, появляются мышечные элементы.

При пересадках на стадии хвостовой почки зачаток конечности способен к самодифференцировке<sup>(6, 2)</sup> и многие другие). Конечности развиваются, если на этой или более ранней стадии удалить пронефрос<sup>(1)</sup>, всю энтодерму нейрулы<sup>(4)</sup> и повидимому также при денервации<sup>(5)</sup> и другие).

I. М а т е р и а л и м е т о д

До настоящего времени опыты эксплантации производились лишь на зародышах птиц<sup>(11)</sup>. В предлагаемой работе подопытным материалом служили зародыши *Triton taeniatus*, передние конечности которых развиваются с большой скоростью. Эксплантировались зачатки в солевом растворе Гольтфретера<sup>(7)</sup>, в условиях стерильности на стадиях хвостовой почки и линзообразного зачатка конечности. Длительность эксплантации составляла в среднем 8—9, а самое большее—13 дней. Эксплантаты фиксировались на разных стадиях развития.

II. Э к с п е р и м е н т а л ь н а я ч а с т ь

Эксплантация бока. На стадии хвостовой почки эксплантировался материал бока, содержащий один или оба зачатка передних конечностей. Эксплантаты брались с пронефросом или без него.

Вырезанный кусок сильно сжимался, образуя неправильный комок. Затем края его срастались, и в течение 1—2—3 суток он постепенно превращался в почти прозрачное, полое, шарообразное тело. Далее помимо некоторого увеличения объема никаких изменений в нем не наступало. Из 44 опытов ни в одном случае конечность не развивалась. Гистологическое

исследование показало, что эксплантат состоит из эпителия и тонкой мезодермальной выстилки (сомато- и спланхноплевры). Внутри этой оболочки имеется незначительное количество беспорядочно расположенных мезенхимных клеток и волокон. Среди них в ряде случаев располагается пронефрос. Он имеет по большей части форму шара, с толстой стенкой и небольшой полостью. Кроме того во многих случаях в мезенхиме имеются комочки энтодермы.

К концу опыта у контрольных нормальных зародышей развивались передние конечности с тремя пальцами и хорошо развитым хрящевым скелетом. Пронефрос у них был хорошо развит и состоял из множества канальцев с тонкими стенками и большими полостями.

**Эксплантация бока и энтодермы.** Результаты предыдущей серии опыта могли зависеть или от того, что эксплантаты не испытывали со стороны других частей зародыша, не вошедших в эксплантат, влияний, необходимых для развития конечности, или от того, что при эксплантации сильно изменялось состояние натяжения тканей зачатка конечности. В нормальном развитии эти ткани сильно растянуты на поверхности тела зародыша, при эксплантации в течение долгого времени (1—3 суток) они находятся в состоянии сильного сжатия. С целью выяснить значение фактора натяжения был поставлен следующий опыт. У зародышей на стадиях хвостовой почки и линзообразного зачатка конечности изолировалась брюшная часть зародыша. Она состояла из эпителия и мезодермы боков и живота, растянутых на энтодерме. Как было уже отмечено выше, Мангольд<sup>(4)</sup> показал, что передние конечности у тритонов хорошо развиваются после удаления всей энтодермы на стадии нейрулы. Таким образом в предполагаемых опытах энтодерма была использована в качестве лишь механического фактора. Всего было проведено 92 опыта. В большинстве случаев энтодерма оставалась неповрежденной, и зачатки конечностей были сильно на ней растянуты, так же как в норме. В этих случаях на своих нормальных местах возникали конечности и развивались дальше вплоть до образования зачатков 2—3 пальцев. Контрольные конечности нормальных зародышей несколько опережали подопытных в своем развитии. Конечности эксплантатов, по тому, как протекало их развитие, почти не отличались от нормальных конечностей и проходили те же стадии. В отношении морфологии различия все же можно было установить. Конечности, образовавшиеся при эксплантации на стадии хвостовой почки, были лишены пигментных клеток, тогда как при эксплантации на более поздних стадиях они обладали пигментными клетками. Это понятно после работ Равена<sup>(9,10)</sup> и Дюшена<sup>(3)</sup>, показавших, что пигментные клетки возникают путем миграции материала ганглионарной полоски. Кроме того в конечностях эксплантатов часто наблюдается атипическое расположение мезенхимы: она значительно разрыхлена около эпителия и у основания зачатка и она очень сконцентрирована по всему объему зачатка конечности при нормальном развитии. За счет этого разрыхления мезенхимы значительно увеличивается объем конечностей эксплантатов. Закладка, развитие и охрящевание скелета происходят одинаково как в опыте, так и в контроле.

Если при операции зачатки конечности были повреждены, то в дальнейшем развивались атипические конечности, в некоторых случаях конечности вовсе не развивались. Сущность повреждения в этих случаях сводилась к тому, что энтодерма вылезала наружу, а материал зачатков конечностей сильно сжимался. Таким образом в этих случаях, несмотря на присутствие энтодермы, так же как и в предыдущей серии опыта с эксплантацией материала бока без энтодермы, в результате сжатия эксплантата конечности не развивались.

Любопытно, что у эксплантатов более поздних стадий (линзообразного зачатка конечности) конечности развивались хуже, чем у эксплантатов более ранних стадий (хвостовая почка).

Эксплантаты состояли из эпителия, мезодермальной выстилки и базальной мембраны. Если эксплантат был взят на более поздней стадии, то под эпителием находились также пигментные клетки. Внутри эксплантаты содержали энтодерму, пронефросы и часто зачатки сердца. Последние были полыми и пульсировали. Энтодермальный желток постепенно резорбировался, но гораздо медленнее, чем у контрольных зародышей. Резорбция желтка и дифференцировка энтодермы протекали гораздо быстрее и лучше у эксплантатов, взятых на более поздних стадиях. О развитии изолированной энтодермы будет сообщено в специальной работе. Пронефросы дифференцировались на ряд тонкостенных канальцев.

Эксплантация бока, энтодермы и осевых органов. Эта серия опыта была проведена с целью проверить, какое влияние на развитие конечностей оказывает самая эксплантация. У 10 зародышей на стадии хвостовой почки изолировалась путем поперечных разрезов вся область между 3—6 сомитами. Раны вскоре затягивались. Постепенно эксплантат раздувался в виде пузыря. Конечности развивались примерно так же, как во второй серии опыта, но они всегда имели пигментные клетки. В эксплантате содержались: нервная трубка, хорда и сильно разрыхленные миотомы. Эксплантат был иннервирован и подергивался. Энтодерма хорошо дифференцировалась в отрезок тонкой кишечной трубки. На дорсальной стороне эксплантата развивался спинной плавник, состоящий из эпителия и рыхлой студенистой соединительной ткани.

Эта серия опыта позволяет сделать вывод, что в условиях эксплантации конечности развиваются одинаково как при наличии, так и при отсутствии осевых органов: миотомов, хорды и нервной трубки. Другой вывод: конечности у эксплантатов развиваются при наличии и отсутствии осевых органов одинаково и слабее, чем таковые у контрольных зародышей. Этот момент относится за счет операции эксплантации части зародыша, заключающей зачатки конечностей.

Добавление. При изоляции брюшной части тела зародыша оставалась другая часть: голова, осевые органы спины и хвостовая почка. Эти «головоспинные» части были также отсажены в солевой раствор. Обширная рана вскоре затягивалась, и эти части начинали развиваться. Они развивались синхронно с нормальными зародышами. У них развивались все органы головы: глаза с линзами, балансеры, нос, мозг; осевые органы, состоящие из хорды, сомитов и нервной трубки; над ними протягивался хороший спинной плавник, а сзади развивался большой хвост. Зародыши были густо усыпаны пигментными клетками и хорошо двигались, плавали в воде. У них отсутствовало только брюхо с энтодермальными органами, сердцем, пронефросами и конечностями. Наиболее бросалось в глаза у этих «головоспинных» зародышей недоразвитие жабр. В то время как у контрольных зародышей имелись хорошие ветвистые жабры, у этих зародышей вместо жабр торчало 3 тонких отростка. Недоразвитие жабр можно поставить в связь с отсутствием циркуляции крови и дыхания. Таким образом функция дыхания в значительной мере отражается на морфогенезе наружных жабр [ср. с данными Машковцева (8)].

### III. Выводы

1. В солевом растворе эксплантировались зачатки конечностей зародышей тритонов. При этом развивались конечности, обладающие зачатками 2—3 пальцев, мезенхимой, хрящевым скелетом и эпителием с базальной

мембраной. Если эксплантация производилась на стадиях более поздних, чем стадия хвостовой почки, то у конечностей развивались пигментные клетки.

2. Для развития конечностей при эксплантации в солевом растворе совершенно необходимо наличие и эпителия, и мезодермы их зачатков. Однако это развитие происходит лишь при условии сильного натяжения эксплантированного материала. Совокупность отмеченных здесь факторов и является тем их минимумом, который требуется для развития конечностей. Пигментные клетки, кориум, отростки миотомов, нервы, нормальное кровоснабжение—все это факторы, которые можно исключить из процесса развития конечностей у тритонов без нарушения типических признаков, характеризующих конечность.

3. Получены данные о развитии эксплантированных зачатков энтодермальных и некоторых мезодермальных органов зародышей тритонов.

Институт экспериментальной биологии  
Наркомздрава СССР.

Поступило  
22 IX 1938.

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Б. І. Балінський, Труды Фізико-математич. відд. ВУАН, **12** (1929).  
<sup>2</sup> S. R. Detwiler, Journ. exp. Zool., **55** (1930). <sup>3</sup> G. Ph. DuShane, Journ. exp. Zool., **72** (1935). <sup>4</sup> O. Mangold, Naturwiss., **24** (1936). <sup>5</sup> V. Hamburger, Roux' Arch., **114** (1928). <sup>6</sup> R. G. Harrison, Journ. exp. Zool., **25** (1918).  
<sup>7</sup> J. Holtfreter, Roux' Arch., **124** (1931). <sup>8</sup> А. А. Машковцев, Успехи совр. биол., **4** (1935). <sup>9</sup> Chr. P. Raven, Roux' Arch., **125** (1931). <sup>10</sup> Chr. P. Raven, Roux' Arch., **134** (1936). <sup>11</sup> T. S. P. Strangeways a. B. Fell, Proc. Roy. Soc., London (B), **99** (1926).