

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

Б. И. БАЛИНСКИЙ, Б. И. ГОЛЬДШТЕЙН, Р. И. ЛИРЦМАН  
и Е. М. ШАШИРО

**К ВОПРОСУ ОБ ИНДУКЦИИ МЕДУЛЛЯРНОЙ ПЛАСТИНКИ ПРИ  
ПОМОЩИ ЭКСТРАКТОВ И СИНТЕТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ**

*(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 10 III 1940)*

Работами ряда авторов (Нидхем, Воддингтон и др.) установлено, что из тканей, способных индуцировать медуллярную пластинку у зародышей амфибий, возможно путем обработки тканей эфиром, петролейным эфиром и т. п. получить жироподобное вещество, обладающее способностью индуцировать. Было найдено также, что некоторые получаемые синтетические соединения из группы стеролов, будучи введенными молодому зародышу, способны индуцировать медуллярную пластинку. Так как вводить эти вещества (как полученные путем экстрагирования, так и синтетические) в зародыш в чистом виде не удается, было применено замешивание или коагулирование этих веществ с другими веществами, считающимися индифферентными в отношении индукции: нейтральными жирами, яичным белком. В таком виде испытуемые вещества задерживались в теле зародыша достаточно долго для того, чтобы они могли оказать свое индуктивное действие.

Целью настоящей работы было: сравнить между собой различные источники и способы получения индуцирующих экстрактов и различные способы введения испытуемых веществ в зародыш (различные «коагуляты» для введения испытуемого вещества). Опыты были проведены в весенние сезоны 1937—1938 гг. Несмотря на сравнительно небольшое количество полученных успешных случаев, результаты работы представляют интерес прежде всего с методической стороны.

Для получения индуцирующих веществ в наших опытах были использованы такие источники: печень кролика, зародыши цыпленка в возрасте 10 и 14 дней. Экстрагирование индуцирующих веществ производилось при помощи серного эфира или петролейного эфира в аппарате Сокслета в течение 50 час. Эфир затем отгонялся на водяной бане. Перед экстрагированием примененные ткани высушивались. Печень кролика для этого измельчалась, затем смешивалась с безводным сульфатом натрия и помещалась (на несколько дней) в эксикатор над хлористым кальцием. Куриные зародыши высушивались просто в сушильном шкафу при температуре не выше 105° до постоянного веса, а затем измельчались в порошок. Для всаживания в зародыш полученный экстракт размешивался в виде тонкой эмульсии в яичном белке, или агар-агаре, или желатине. Для

изготовления эмульсии 0,1 г испытуемого вещества помещалась в маленькую ступку и растворялась в 1 см<sup>3</sup> ацетона, добавлялся 1 см<sup>3</sup> вещества, служащего для коагуляции (куриный белок, разведенный на 1/3 водой, 8%-ный раствор желатины или 2%-ный раствор агар-агара), и состав тщательно растирался пестиком. Вслед за тем ацетон отгоняли на водяной бане, а полученную массу переносили в пробирку и стерилизовали в течение 10—15 мин. на кипящей водяной бане. Яичный белок при этом коагулировался теплом, агар-агар и желатина при застывании также давали мягкую массу, из которой легко было вырезать небольшие кусочки и всаживать их зародышу. Источник получения вещества, растворитель и коагулянт применены в отдельных сериях опыта в различных комбинациях. Для сравнения с подвергнутыми химической обработке экстрактами было исследовано индуктивное действие тканевого сока из печени, полученного путем растирания печени кролика с песком и последующей фильтрации через полотно (сок, содержащий и отдельные клеточные ядра, также коагулировался теплом). Наконец, еще в отдельной серии мы попытались получить индукцию медуллярной пластинки при помощи определенного химического соединения: краски метиленовой синьки. По данным Нидхема, Ваддингтона и Браше (1) раствор этой краски способен вызвать превращение зародышевой эктодермы в нервную ткань, если в раствор помещать эксплантаты зародышевой эктодермы. Мы попытались ввести метиленовую синьку внутрь зародыша таким путем, что растворяли краску с агаром (на 100 г воды 3—10 г агар-агара и от 1 до 0,0001 г метиленовой синьки).

Все испытуемые вещества мы вводили в бластоцель бластулам или молодым гастралам обыкновенного тритона (*Triton taeniatus*). Фиксировались

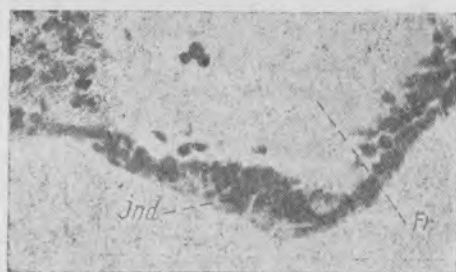
Результаты опытов по индукции медуллярных образований у зародышей тритона

Источник индуцирующего вещества	Растворитель	Коагулянт	Трансплантат								
			Всего операций	Из них погибло	Всего выжило	Отсутствует	В эктодерме	Без изменений	Под кожей		
									Слабая индукция	Явно выраженная медуллярная индукция	Нейральная индукция (хрусталики, балансеры)
Печень (коагулированный тканевой сок)	—	—	26	6	0	3	3	6	3	3	2
Печень . . . . .	Петролейный эфир	Агар	34	6	28	6	14	7	1	0	1
» . . . . .	Серный эфир	»	36	10	9	7	9	9	3	0	1
» . . . . .	»	Желатина	15	4	11	3	4	4	0	0	0
» . . . . .	»	Яичный альбумин	48	25	23	7	3	8	1	4	1
Куриные зародыши . .	»	Агар	24	7	17	7	3	3	1	1	2
» . . . . .	»	Желатина	16	7	9	6	0	2	0	1	0
» . . . . .	»	Яичный альбумин	41	15	6	3	2	15	1	3	1
Метиленовая синька .	»	Агар	214	127	87	57	24	6	0	0	0
Контроль . . . . .	»	»	16	8	8	2	4	2	0	0	0
» . . . . .	»	Желатина	9	5	6	2	1	3	0	0	0
» . . . . .	»	Яичный альбумин	46	25	5	3	4	5	3	0	0

зародыши на стадиях поздней хвостовой почки и стадии вытянутого зародыша, когда дифференцировка различных тканей уже вполне явственна. В таблице приведены результаты проведенных нами опытов.

Из результатов опытов мы можем отметить следующее. Как источник для получения индуцирующего вещества, куриные зародыши оказались заметно лучше, чем печень кролика; что, быть может, указывает на большую концентрацию в них индуцирующих веществ, однако в этом смысле наши опыты являются недостаточными. Метиленовая синька вопреки ожиданию не дала в наших опытах никакого индуктивного эффекта. Если это не является результатом недостаточного числа успешных опытов, то это значит, что введенного количества краски было недостаточно, либо что

введение метиленовой синьки в агаровом коагуляте не создает подходящих условий для ее индуктивного действия. Проведенные опыты не обнаружили никакого различия



*Triton taeniatus* BW-18. «Палисадная» индукция (*ind*), полученная в результате всаживания чистого яичного белка (*Tr*). А—общий вид при малом увеличении. В—часть того же среза при большом увеличении.

между серным эфиром и петролейным эфиром, как растворителями для индуцирующего вещества. Наиболее интересные результаты наших опытов относятся к значению различных коагулятов, примененных для введения в зародыш индуцирующих веществ.

Наименее подходящим коагулятом оказалась желатина—как со стороны удержания ее зародышем, так и со стороны индуктивного действия введенного вещества. Несколько лучшие результаты дал агар-агар, но и с ним получение индукций очень затруднено. Трудности вытекают уже из того, что агар лишь в небольшой части случаев удерживается в том положении, которое необходимо для индукции—именно под эктодермой. Куски агара либо погружаются внутрь энтодермальной желточной массы, либо выталкиваются наружу. Так, например, в большой серии с всаживанием агара с метиленовой синькой из 87 выживших зародышей лишь у 6 агара оказался под эктодермой. Однако даже тогда, когда агар остается на месте, индуктивный эффект получается значительно более слабый, чем при всаживании коагулированного тканевого сока печени. Самый лучший результат дал в наших опытах яичный белок. При всаживании индуцирующих веществ в коагуляте из яичного белка нами получено наибольшее число индукций мозговых пузырей, а также в нескольких случаях были индуцированы неневральные образования: хрусталики, балансеры, пигментные клетки (неневральные индукции получены и в некоторых других сериях опытов). Яичный белок задерживается в зародыше значительно лучше, чем агар, но даже и в тех случаях, где имплантат выпал, иногда есть хорошие индукции, что указывает на то, что даже кратковременного пребывания трансплантата было достаточно для полу-

чения индуктивного эффекта. Индуктивный эффект при всаживании индуцирующих веществ в агаровом коагуляте был приблизительно равен эффекту, полученному при всаживании коагулированного тканевого сока печени.

Повидимому, именно благоприятные свойства яичного белка как коагулята при введении в зародыш индуцирующих веществ привело к тому, что в последних работах (<sup>2,3</sup>) английские авторы пользуются преимущественно этим коагулятом. Однако наши опыты показывают, что при использовании яичным белком как коагулятом при исследовании индуцирующих веществ нельзя игнорировать и влияния на развитие самого белка. Как видно из таблицы, нами были поставлены в небольшом количестве контрольные опыты с всаживанием чистых коагулятов. При всаживании чистого агара или желатины не удается обнаружить какой-либо реакции со стороны реципиента. При всаживании же яичного белка мы наблюдали образование различных разрастаний эктодермы по соседству с имплантатом, в этих разрастаниях иногда можно обнаружить присутствие дифференцировок, напоминающих дифференцировку медуллярной пластинки (так называемые «палисадные индукции»). Приводим микрофотографии одного такого случая (при большем и меньшем увеличении). Таким образом, хотя в наших опытах настоящих медуллярных образований яичный белок не индуцировал, все же приходится констатировать, что он сам по себе обладает слабым индуктивным действием. Это обстоятельство совершенно игнорируется английскими авторами, которые даже самые слабые индуктивные эффекты («палисадные индукции») приписывают действию вводимого с коагулированным белком испытуемого индуктивного вещества.

Здесь возникает интересный вопрос, какова роль яичного белка как коагулята при индукции настоящих медуллярных образований (которых сам по себе белок, повидимому, индуцировать не может)? Почему при введении экстракта в белковом коагуляте получается лучший эффект, чем при введении того же экстракта в агаровом коагуляте? Имеем ли мы здесь дело с суммированием индуктивного эффекта самого белка и заключенного в нем экстракта индуцирующих веществ, или белок создает как-либо иначе особые условия для успешного действия этих веществ? Эти вопросы могли бы быть разрешены при помощи специальных исследований.

Институт зоологии  
Академии Наук УССР  
и Институт биохимии  
Академии Наук УССР  
Киев

Поступило  
17 III 1940

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> С. Н. Waddington, J. Needham a. J. Brachet, Proc. Roy. Soc., **120**, № 817 (1936). <sup>2</sup> С. Н. Waddington, J. Needham, W. W. Nowinski, R. Lemberg a. A. Cohen, Proc. Roy. Soc., **120**, № 817 (1936). <sup>3</sup> J. Needham, «Kongressbericht II», XVI Intern. Physiol. Congress, Zürich (1938).