

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

Л. В. ПОЛЕЖАЕВ

**ЭКСПЛАНТАЦИЯ И СРАЩИВАНИЕ КАК МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ  
НЕКОТОРЫХ ВОПРОСОВ ЭМБРИОЛОГИИ И ФИЗИОЛОГИИ**

(Представлено академиком К. И. Скрябиным 24 XI 1949)

Поставленный Д. П. Филатовым <sup>(1)</sup> вопрос о неспецифичности начальных стадий органогенезов имеет принципиальное значение для понимания эмбрионального развития и разработки методов управления им. Поэтому весной 1948 г. я решил продолжить свои исследования, начатые по этому поводу более 10 лет тому назад <sup>(2)</sup>, усовершенствовав методику. Для решения вопроса надо освободить из типичных связей материал будущего зачатка органа, исключив возможное специфическое на него влияние со стороны окружающих его органов, создать минимум необходимых условий и проследить его развитие. Вопрос можно решить путем получения индукции конечности у зародышей амфибий вне обычных условий, например при эксплантации или при пересадке боковой пластинки вместе с индуктором на то место тела зародыша, где индукция не происходит. Недостаток моих прежних опытов состоял, во-первых, в невозможности длительно культивировать эксплантаты в солевом растворе и, во-вторых, в неудачном выборе места (район головы) для пересадки исследуемого материала, где происходит рассасывание зачатков конечности. Усовершенствование методики позволило не только преодолеть указанные недостатки и получить вполне определенный ответ на поставленный вопрос, но также получить данные, дающие возможность подойти к исследованию ряда других вопросов эмбриологии, физиологии и даже патологии.

Эксперимент был проведен на зародышах тритонов *Triton taeniatus* весной 1948 г. Операции проводились в условиях стерильности. Зародыши содержались вначале в неразведенном, а затем в разведенном гольтфретеровском растворе, а далее в сырой воде. Опыт длился до 26 дней. Развивающиеся личинки кормились циклопами. Реципиентами служили зародыши на стадии малой и большой хвостовой почки (стадия 30—33 по Гаррисону), а донорами, от которых брались носовые плакоды («индукторы»), — зародыши того же возраста или несколько старше. Весь полученный материал обрабатывался гистологически с окраской борным кармином и сине-черной краской.

1. Индукция. В качестве контроля были проведены опыты с обычной, простой индукцией конечности. Носовая плакода пересаживалась зародышам под эпителий бока в район 6—9-го сомитов, где наиболее часто бывает индукция. Из 53 животных, оставшихся к концу опыта, в 28 случаях (приблизительно 50%) имела место индукция, т. е. на боку возникли добавочные образования; в 4 случаях возникли хорошо развитые конечности с пальцами; в 12 случаях — дефектные конечности с неполным числом пальцев или даже вовсе без пальцев;

и в 11 случаях образовались зачатки конечностей в виде почки или ко- нуса, не успевшие развиться дальше ввиду ранней фиксации животных.

2. Эксплантация. Во второй серии носовая плакода пересажи- валась под эпителий бока зародышам так же, как и в предыдущей се- рии, а затем, через 1 час после пересадки, производилась изоляция и эксплантация материала боковых пластинок, растянутого на энтодерме, по методике, предложенной нами раньше (2). Всего было сделано 10 операций эксплантации. Дольше 11 дней сохранить эксплантаты не удавалось. Результаты получились такие же, как и раньше: эксплантаты раздуваются, превра- щаясь в короткие толстые загнутые к спине трубки, в которых лежат медленно развивающиеся ки- шечники, долго сохраняющие нерассосавшийся желток; собственные зачатки конечностей разви- ваются раздутыми, образуя на конце два паль- ца; в области пересаженной плагоды в ряде случаев начинают индуцироваться линзовидные зачатки конечности. Эксплантаты лишены нер- вов, мускулатуры, пигментных клеток и кори- ума. Эпителий подостлан базальной мембраной.



Рис. 1. *ик* — индуциро- ванная конечность

3. Пересадка. Зародышам, находящимся на той же стадии хвостовой почки, под эпидер- мис боковой области в район 6—9-го сомитов была пересажена носовая плакода. Через 1 сут- ки у них вырезались прямоугольные куски бока, состоящие из эпидермиса, соматоплевры и пере- саженной плагоды, и они были пересажены на место удаленного куска бока в район 7—10-го миотомов личинке, обладающей передними ко- нечностями с 3 пальцами (стадия 44 по Гарри- сону), у которой на этой стадии уже нельзя индуцировать конечность. К концу опыта, через 25 дней, осталось 24 ли- чинки. В 3 случаях из пересаженного куска бока под влиянием носовой плагоды образовались хорошо развитые добавоч- ные конечности (рис. 1); в 1 случае образовалась большая атипичная конечность; в 6 случаях возник- ли небольшие выросты или бугры; в 14 остальных случаях не наблюдалось никаких образований. Этот опыт показывает, что материал бока зародыша, со- стоящий из эпителия и соматоплевры, обладает способностью к образованию конечности без каких- либо добавочных специфических для развития ко- нечности факторов, при условии наличия питатель- ного материала, растяжения материала и действия на него носовой плагоды. Специфичность приобре- тается материалом будущего зачатка конечности на более ранней стадии, повидимому, в процессе гастрюляции.

4. Сращивание. Опыт проводился точно так же, как в описанной выше серии 2 (эксплан- тация), с той разницей, что после изоляции эксплан- тат одним из мест его спинной стороны приращи- вался к брюху другого зародыша того же возраста или несколько более старшего. Сращивание обеспе- чивало эксплантату дыхание и питание, которое поступало к нему через кровеносную систему реципиента, что обеспечивало ему возможность длительного существования. С другой стороны, приращенный эксплантат развивался при выключении ряда условий, существующих в нормальном



Рис. 2. *кэ* — конечность, развившаяся из зачатка в эксплантате; *ик* — ко- нечность, индуцирован- ная в эксплантате

организме: в отсутствие нервной системы, мускулатуры, кориума, пигментных клеток и возможных специфических для развития конечности факторов.

Всего к концу опыта осталось 60 животных. Эксплантаты хорошо прирастали к реципиенту и развивались значительно быстрее, чем без сращивания, находясь в чистом солевом растворе. Они никогда не раздувались, как при простой эксплантации, желток в кишечнике рассасывался быстро, кишечник, печень и другие энтодермальные органы развивались хорошо и имели типичное строение. В некоторых случаях кишечник эксплантата слился с кишечником хозяина, образуя единую широкую кишечную трубку, что показывает на возможность хорошей и полной регуляции кишки на исследованных стадиях. Во многих случаях в эксплантате были захвачены зачатки сердца, и у зародышей в дальнейшем возникали два хорошо функционирующих сердца — хозяина и эксплантата, включенные в единую систему кровообращения. В некоторых случаях в результате сращивания сердце хозяина выключалось и кровообращение шло за счет работы сердца эксплантата. В 2 случаях у зародышей было по 2 сердца — хозяина и эксплантата; они пульсировали, но кровь не перегоняли, так как зачаток крови при сращивании был удален. В этих случаях ряд органов развивался хорошо, но некоторые, например жабры, были очень недоразвиты, а сами личинки сильно раздувались вследствие нарушения окислительных процессов и общего обмена веществ.

Покровы приращенного эксплантата остаются очень долгое время непигментированными. Собственные зачатки конечностей у них развились во всех 60 случаях. Кроме того, в ряде случаев в районах конечностей хозяина из материала эксплантата развились добавочные передние или задние конечности. Конечности эксплантата хорошо сформированы, имеют хорошо развитый скелет и пальцы, но неподвижны и не чувствительны — не реагируют на укол вследствие отсутствия в них нервов; они лишены пигментации и вместо кориума имеют только базальную мембрану. У них развиваются зачатки мышц в виде групп связок, идущих вдоль и вокруг скелета, при полном отсутствии связи с мышцами хозяина. Однако в дальнейшем эти мышцы, никогда не приобретающие типичную структуру поперечно-полосатых волокон, подвергаются дегенерации.

В некоторых случаях дистальные части конечностей эксплантата были откушены циклопами и начали регенерировать при отсутствии в них нервов.

Особый интерес представляют случаи индукции конечностей в приращенных эксплантатах; их было всего 17 из 60, т. е. 28%. В 3 случаях индуцировались хорошо дифференцированные конечности с пальцами (рис. 2), в 14 случаях индуцировались атипичные конечности и их зачатки. Во всех этих случаях гистологическое исследование обнаруживало их связь с пересаженной носовой плакодой.

Также особый интерес представляют некоторые случаи удвоения конечностей у приращенных эксплантатов. Удвоение возникает как у основания конечности, так и в районе предплечья и кисти. Во всех этих случаях обнаруживается, что у основания конечности лежит пересаженная носовая плакода. Таким образом, последняя, воздействуя на зачаток конечности, изменяет его физиологическое состояние и вызывает уродство. Отсюда можно предположить, что часто наблюдающиеся случаи полидактилии у позвоночных, в том числе и человека, вызываются некоторыми физиологическими сдвигами, происходящими в организме под влиянием известных внешних условий в момент возникновения и развития зачатка конечности.

Полученные нами данные позволяют сделать следующие выводы:

1. Нет достаточных оснований считать, что начальные стадии орга-

ногенезов неспецифичны. Конечности у зародышей тритонов могут возникать из специфически подготовленного к развитию материала боковой пластинки до образования зачатка при наличии индуктора (носовой плакоды) и исключения возможных специфических конечностнообразующих факторов (серии 3 и 4). Это значит, что для того, чтобы наиболее глубоко изменить развитие конечности или какого-либо другого органа, надо повлиять на него еще до стадии образования его видимого зачатка (до начальной стадии органогенеза). Этот вывод имеет большое значение для регуляции любых органов в эмбриогенезе в нужном для человека направлении как в хозяйственном, так и в медицинском отношениях.

2. Предлагаемый метод эксплантации и сращивания позволяет исследовать ряд вопросов эмбриологии: происхождение мускулатуры в свободной конечности, роль иннервации, кориума, пигментации в развитии конечности и других органов; способность к регуляции кишки, печени и других энтодермальных органов.

3. Данный метод позволяет исследовать некоторые вопросы регенерации конечностей и других органов при их денервации, отсутствии мускулатуры, кориума и пр.

4. Этот метод позволяет также исследовать некоторые вопросы физиологии: зависимость развития ряда органов от общего обмена при изменении окислительных процессов путем выключения крови из живой особи; работу сердца при отсутствии крови в организме или включении второго сердца в систему кровообращения и др.

5. Наконец, полученные данные позволяют подойти с новой стороны к вопросу о возникновении уродств и аномалий в развитии конечности и других органов у позвоночных. Разработка этого вопроса имеет существенное значение для объяснения явлений различных аномалий и уродств у человека и борьбы с ними.

Институт морфологии животных  
им. А. Н. Северцова  
Академии наук СССР

Поступило  
24 XI 1949

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> D. Filatow, Roux' Arch., 127 (1933). <sup>2</sup> Л. В. Полежаев, ДАН, 20 (1938).