

ЭМБРИОЛОГИЯ

Б. П. ТОКИН и А. Г. ФИЛАТОВА

ЯЙЦО КРОЛИКА И БАКТЕРИИ

(МАТЕРИАЛЫ К ПРОБЛЕМЕ ИММУНИТЕТА ЗАРОДЫШЕЙ)

(Представлено академиком К. М. Быковым 15 IV 1953)

Яйцевые клетки большинства животных в естественных условиях оказываются в контакте с теми или иными бактериями, низшими грибами, простейшими. Достаточно вспомнить эмбриональное развитие падальных мух или лошадиной аскариды, яйцевые клетки лягушек или рыб.

Мы указывали, что эмбриология, следуя научному наследию Мечникова и Ковалевского, может и должна разрабатывать вопросы иммунитета зародышей, как главу эволюционной эмбриологии (3, 4). В ходе исследования в этой новой области возникло огромное количество вопросов о «защитных механизмах» эмбрионов на тех стадиях развития, в отношении которых понятия «антиген — антитело» неприменимы, и когда могут отсутствовать воспалительные и фагоцитарные реакции. К тому же надо иметь в виду, что выработка «антител» в ответ на «антигенный раздражитель» свойственна далеко не всем животным, а лишь, вероятно, начиная с птиц (1). Вопросы иммунитета зародышей не могут разрешаться односторонне «иммунологически». Возникновение и смена иммунологических свойств в ходе развития организма не может быть явлением, обособленным от процессов формообразования, от общих процессов эмбрионального развития. С другой стороны, те или иные возникшие «защитные механизмы» необязательно должны иметь только одно физиологическое значение. Так, фагоцитарные возможности лейкоцитов крови человека могут иметь далеко не только иммунологическое значение. Эти и иные соображения и гипотезы, возникшие в нашей лаборатории, продиктовали экспериментально-эмбриологические исследования в разнообразных направлениях: изучение защитного значения оболочек яиц, выяснение биологической роли так называемых «лизоцимов», иммунологического и формообразовательного значения различных возникающих и изменяющихся в ходе эмбрионального развития жидкостей (жидкость полости Бэра, амниотическая и аллантоисная и др.).

Особенно много вопросов встает перед эмбриологами при анализе ранних стадий развития эмбрионов млекопитающих. Вспомним, например, что для эмбриологии пока еще достаточно загадочным является «механизм» имплантации яиц в стенку матки. Очень может статься, что иммунологические свойства яиц млекопитающих на ранних стадиях развития, например наличие у них «лизоцимных», «антибиотических» веществ, имеет прямое отношение к формообразовательным процессам, происходящим при встрече яйца со слизистым эпителием. Достаточно предположить, что те же самые свойства яйца, от которых зависит торможение размножения окружающих его бактерий, могут иметь значение для явления лизиса эпителиальных клеток в место контакта эпителия с яйцом. Эти вопросы разрабатываются в нашей лаборатории (Е. В. Зыбина).

Возникающие на какой-либо стадии развития новые свойства у зародышей, например фагоцитарные реакции тех или иных клеток, или появление «антибиотических свойств» не обязательно должны иметь иммунологическое или формообразовательное значение именно на данной стадии развития эмбриона. Это соображение, очевидно, особенно справедливо в отношении эмбрионального развития млекопитающих.

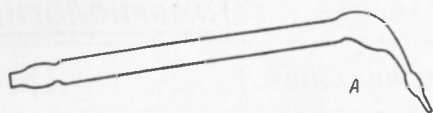


Рис. 1

В настоящем сообщении излагаются материалы о торможении яйцевыми клетками кролика размножения бактерий*.

Способ операции и микробиологическая техника. Мы работали с яйцевыми клетками кролика (порода шиншилла) на разных стадиях развития, до их имплантации в стенку матки. Мы использовали с некоторыми видоизменениями способ вымывания яиц, предложенный А. Д. Курбатовым. Вымывались яйцевые клетки на разных стадиях их развития до их имплантации в стенку матки. Послойно вскрывается брюшная полость самки. В брюшное отверстие яйцевода вводится своим изогнутым концом А стеклянный яйцеприемник (рис. 1). Можно затем фиксировать яйцеприемник в яйцеводе провизорным «швом». В большинстве случаев, однако, не требуется делать этого. В месте перехода яйцевода в матку шприцем (наклон в сторону брюшного отверстия яйцевода!) вводится 1—2 см³ физиологического раствора. Жидкость вместе с отмытыми яйцеклетками попадает в яйцеприемник, после чего последний осторожно вынимается и содержимое его выливается в чашку Петри. Так как яйцеклетки могут пристать к стенке прибора, рекомендуется промыть яйцеприемник добавочно. Под микроскопом отыскиваются отмытые яйцеклетки. Как правило, все эти манипуляции приводят к ожидаемому результату. Были случаи вымывания 8—10 яиц (от одной самки). В зависимости от целей экспериментатора вымывание яиц производится через 1—2—3 и т. д. суток после покрытия самки. Избранная нами методика микробиологических исследований страдает серьезными недостатками. Чтобы не было ошибок в выводах, эти недостатки приходилось компенсировать очень большим количеством опытов. О бактерицидных свойствах яйцевых клеток кролика. В день указанных выше операций вымывания яиц агаровые чашки засеивались испытываемыми штаммами бактерий. С помощью платиновой петли отмытые яйцеклетки переносятся на поверхность засеянного агара. Чашки ставятся в термостат при 37°. На следующий день под микроскопом изучалось поведение бактерий, находящихся в контакте с яйцом и в окружении яйца. В опытах были использованы разные культуры: *Bact. dysent.* Shiga, *Bact. dysent.* Flexner, *Bact. typhi abdomin.*, *Micrococcus lysodeicticus*, *St. aureus*, *Bac. megatherium*, *Bact. speiciens* и *Bact. prodigiosum*.

Выбор большинства бактерий был по необходимости эмпирическим. Вследствие неясности большинства относящихся к исследованию вопросов и, в частности, полной неясности вопроса — возможно ли инфицирование эмбриона кролика на ранних стадиях развития и какими микроорганизмами — трудно предъявлять к разведывательным экспериментам подобного рода большие требования, чем достаточное разнообразие бактериальных тестобъектов, характеризующихся разнообразными биохимическими и иными свойствами. Большинство опытов поставлено с дизентерийной палочкой Григорьева — Шига и с *Micrococcus lysodeicticus*. Со штаммом Григорьева — Шига опыты были важны потому, что этот вид бактерий был нами использован и в других иммуно-эмбриоло-

* В нашей работе непосредственное участие приняли микробиологи В. Г. Граменицкая и Е. М. Данини. Приносим им искреннюю благодарность.

гических исследованиях (с жидкостью полости бластоциста, с амниотическими водами и др.) и важно было иметь материал для сравнения. Это соображение тем более относится к *lysodeicticus*, неоднократно, начиная с 1908 г. (Лашенков), использовавшемуся в исследованиях бактерицидных свойств так называемых лизоцимов, получаемых, в частности, из яиц («белок» куриного яйца, яйца рыб и др.).

Таблица 1

Сводные результаты опытов по изучению бактерицидных свойств яиц кролика

На какой день после покрытия вымыты яйца	Стадия развития яиц	Число яиц	С какими бактериями ставились опыты	Результаты	Примечание	
Через сутки	4 бластомера	4	Дизентер. палочка Григ.—Шига	Отрицат.	} Яйца от одной самки	
	Не приступившие к дроблению	2	То же	Стерильн. зона вокруг яиц		
	То же	1	Брюшнотифозн. палочка	То же		
	Через 2 суток	2 бластомера	1	<i>M. lysodeicticus</i>	Отрицат.	} Яйца от одной самки
		То же	1	Дизентер. палочка Григ.—Шига	Стерильн. зона вокруг яйца	
		" "	4	То же	То же	} Яйца от одной самки
" "		2	<i>Bact. speciens</i>	Отрицат.		
" "		1	<i>Bact. megatherium</i>	Стерильн. зона		
Через 3 суток	16 бластомеров	2	Дизентер. палочка Григ.—Шига	То же	} Яйца от одной самки	
	То же	1	То же	" "		
	16 и 32 бластомера	2	" "	Вблизи яиц разреженный рост		
	Оплодотвор., но не дробящееся яйцо	1	" "	Отрицат.		
	16 и 32 бластомера	2	" "	Стерильн. зона		
	Оплодотвор., но не дробящееся яйцо	1	" "	То же		
	16 и 32 бластомера	4	" "	" "		
	16 бластомеров	1	" "	" "		
	То же	3	" "	" "		
	" "	2	Брюшнотифозн. палочка	" "		
	" "	5	Дизентер. палочка Григ.—Шига	" "		
Через 4 суток	Оплодотвор., но не дробящаяся яйцеклетка	1	<i>V. prodigiosum</i>	" "	} Яйца от одной самки	
	8 бластомеров	1	<i>M. lysodeicticus</i>	" "		
		1	<i>V. speciens</i>	" "		
	Более 60 бластомеров	1	Дизентер. палочка Григ.—Шига	" "	} Яйца от одной самки	
	То же	3	То же	" "		
" "	3	Брюшнотифозн. палочка	" "			
Через 4 суток	Около 50 бластомеров	2	Дизентер. палочка Григ.—Шига	" "	} Яйца от одной самки	
	То же	2	То же	" "		
	Не сосчитываемое колич. бластомеров	3	" "	" "		
Через 4 суток	То же	2	Брюшнотифозн. палочка	" "		

Описанная техника микробиологических исследований, конечно, несовершенна. Яйцо кролика (диаметр 0,18—0,2 мм) помещается на агар с посеянными бактериями. Яйцо остается живым очень короткий промежуток времени. Нам ни разу не удалось обнаружить продолжение развития яйца в таких условиях. Повидимому, яйцо остается живым в течение лишь первого часа. Этот вопрос требует, впрочем, специальных исследований. Таким образом, в подобных опытах в лучшем случае можно ожидать очень кратковременного бактерицидного действия оолеммы, с которой окажутся в контакте бактериальные клетки, или действия каких-либо «антибиотических» субстанций, кратковременно выделяющихся яйцом через оолему или самой оолеммой во внешнюю среду. Исползованная техника несовершенна и потому, что определенно выраженный положительный эффект (например, появление бактерицидной зоны вокруг яйца) мыслим лишь при предположении возможности диффузии антибактериальных субстанций яйца сквозь агар. Однако, несмотря на несовершенство методики, описываемые в настоящем сообщении опыты дали, нам кажется, интересные результаты. Как уже говорилось, мы исследовали бактерицидные свойства яиц на разных стадиях развития, начиная с только что оплодотворенных яиц и кончая стадиями 60 и более blastomeres.

Общий результат всех наших опытов не оставил у нас никаких сомнений в энергичных бактерицидных свойствах яиц на всех исследованных стадиях развития. Мы наблюдали или разреженный рост вокруг яиц или совершенно отчетливую стерильную зону. В отдельных случаях удалось отметить изменения в морфологии колоний бактерий вблизи яиц, явления лизиса, «разъедания» колоний, зернистый распад.

Приведем некоторые примеры. В одном из опытов с зародышами, вымытыми на 3 сутки после покрытия самки, как в случае изучения их действия на дизентерийную палочку Григорьева — Шига, так и в случае действия на брюшнотифозную палочку мы наблюдали отчетливую стерильную зону вокруг каждого из 6 бывших в опыте яиц. Диаметр яиц был около 30 делений окуляр-микрометра. Бактерицидный или бактериостатический эффект был отчетливо виден на расстоянии 13 делений окуляр-микрометра. Еще пример. Исследовалось влияние яиц, вымытых из яйцеводов на 3 сутки после покрытия самки, в отношении дизентерийной палочки Григорьева — Шига. На следующий день термостатного содержания чашек с посевами бактерий, мы наблюдали небольшую, но отчетливую бактерицидную зону. Основные результаты всех поставленных нами опытов сведены в табл. 1.

Как видим, из 30 опытов с 60 яйцеклетками, вымытыми от 22 самок на 1-й, 2-й, 3-й и 4-й дни после покрытия, мы получили при изучении их бактерицидных свойств отрицательный результат только в 8 случаях; результаты 52 опытов не оставили сомнений в энергичных бактерицидных свойствах яиц крольчих на всех стадиях до их имплантации в стенку матки. Отметить более слабое или, наоборот, более сильное действие яиц каких-либо определенных стадий нам не удалось. Могут ли иметь иммунологическое значение обнаруженные бактерицидные свойства яиц на ранних стадиях, без специальных исследований решить невозможно. Обнаруженные факты столь интересны, что необходимо продолжение исследований с использованием более совершенных методик.

Ленинградский государственный университет
им. А. А. Жданова и
Институт экспериментальной медицины
Академии медицинских наук СССР

Поступило
10 IV 1953

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Б. К. Аветикян, Иммунологические реакции у беспозвоночных и холоднокровных позвоночных животных, Автореферат диссерт., Ереван, 1952. ² Г. П. Короткова, Л. С. Приезжева, Вестн. ЛГУ, № 7 (1952). ³ Б. П. Токин, Усп. совр. биол., № 4 (1952). ⁴ Б. П. Токин, А. Г. Филатова, ДАН, 90, № 5 (1953).