

О. А. ХОПЕРСКАЯ

## СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ИНДУКЦИЯ ЛИНЗ В ЭКТОДЕРМЕ ГАСТРУЛЫ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ЛИНЗОВОГО ЭПИТЕЛИЯ ВЗРОСЛЫХ ЛЯГУШЕК

(Представлено академиком Б. Л. Астауровым 1 VI 1973)

Основным средством, направляющим дифференцировку в развитии, является эмбриональная индукция — специфическая форма межклеточных взаимодействий, включающая переход морфогенетической информации от одних клеток к другим. Индукционные взаимоотношения, имеющие реальное значение в развитии живых систем, являются сейчас объектом интенсивного изучения (<sup>4</sup>, <sup>15</sup>). Широкое применение методов культивирования зародышевых зачатков органов привело к преодолению тех методических и, что особенно важно, концептуальных трудностей, которые возникали при изучении действия мертвых и гетерогенных индукторов, а также повреждающих воздействий типа нефизиологических значений pH, воздействий различными ионами и т. д. В настоящее время морфогенетические зависимости изучаются на основе представлений о существовании специфических индуцирующих агентов (<sup>13</sup>).

Последовательные индукционные воздействия при формировании линзы приводят к установлению ее окончательной локализации в несколько этапов. В период гастрюляции до стадии открытой нервной пластинки линза может индуцироваться всей латеральной и центральной головной энтомезодермой (<sup>3</sup>). Линзоиндуцирующие влияния первоначально распространяются на области будущих носовых плакод и слуховых пузырьков, о чем мы можем судить по образованию химерных линзоносовых или линзослуховых структур (<sup>11</sup>, <sup>14</sup>). Только последующие индукционные воздействия, включающие вторичную индукцию линзы глазом, подавление линзовой индукции эктомезенхимой в нелинзовых зонах (<sup>14</sup>) и индукцию носовых структур и слуховых пузырьков соответственно передним и средним мозгом (<sup>1</sup>), производят постепенное размежевание дифференцировок органов чувств. Дальнейшее усиление линзовой дифференцировки достигается путем влияния со стороны уже дифференцированной сетчатки и мезенхимы, причем индукционное влияние сетчатки способствует синтезу линзовых белков, а действие мезенхимы — поляризации линзовых клеток и волокнообразованию (<sup>10</sup>).

Поскольку индукция осуществляется в итоге нескольких этапов, то нельзя ли предположить, что в развитии с установлением дифференцировки концентрируются факторы, вызывающие появление определенных клеточных типов и воспроизводящиеся в ряду клеточных поколений? Имеются ли такие факторы в линзовом эпителии, уже прошедшем все этапы индукции? Если да, то тогда можно было бы ожидать, что дифференцированные клетки линзового эпителия, в свою очередь, могут обладать способностью к ассимиляторной индукции подобной себе ткани. Для решения поставленной задачи линзовый эпителий приводили в прямой контакт с эктодермой ранне-средней гастрюлы лягушек (*Rana temporaria*).

Материал и метод. Линза глаза позвоночных состоит из небольшого количества компонентов. Внутри бесклеточной коллагеновой капсулы, находящейся снаружи линзы, имеется единственный тип клеток и незначительное экстрацеллюлярное пространство. Линзовые клетки находятся на разных стадиях дифференцировки. В переднем эпителии они

одинаковы, имеют кубическую форму и синтезируют белки  $\alpha$ - и  $\beta$ -кристаллиновых групп. На экваторе линзы они удлиняются и начинают синтезировать белки  $\gamma$ -кристаллиновой группы. Постоянно делящийся линзовый эпителий дифференцируется в волокна линзового ядра (<sup>2</sup>).

Эктодерма гаструлы стадии 11 (<sup>12</sup>) — другая ткань, которая использовалась в настоящих экспериментах — обладает уникальной способностью под действием индуктора определенной специфичности превращаться в

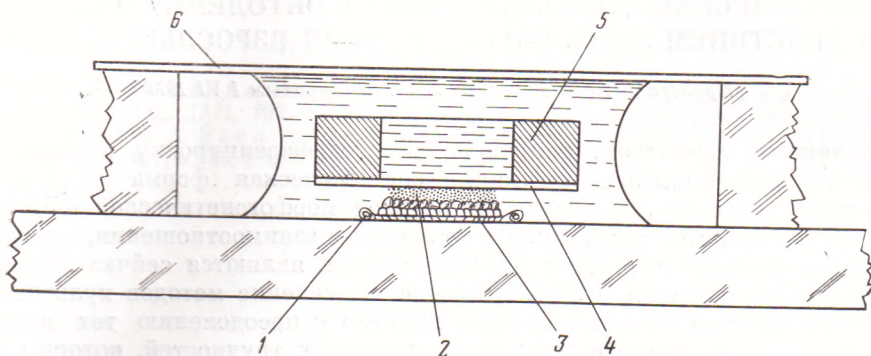


Рис. 1. Схема постановки опыта. 1 — линзовый эпителий, 2 — эктодерма гаструлы, 3 — капсула, 4 — миллиметровый фильтр, 5 — кольцо из плексигласа, 6 — покровное стекло

любую ткань организма. В экспериментально-эмбриологических исследованиях она используется для тестирования специфичности индуцирующих агентов.

Из глаз взрослых лягушек выделяли линзы, а затем с передней, более плоской поверхности вместе с капсулой вырезали линзовый эпителий. Участки эктодермы удаляли стандартным способом (<sup>5</sup>). Обе выделенные ткани обладают способностью свертываться в культуральной среде в пузырьки, причем линзовый эпителий сворачивается так, что его внутренняя клеточная поверхность оказывается обращенной к культуральной среде, а эктодерма свертывается, обращаясь наружной стороной к среде. Эти особенности исключают возможность прямого контакта выделенных тканей. Однако, чтобы его все-таки осуществить, только что выделенные ткани прикладывали друг к другу, и на них помещали небольшой груз, подобранный так, чтобы он не повреждал находящиеся под ним клетки (рис. 1). Линзовый эпителий в части случаев приводили в контакт с эктодермой клеточной стороной (31 опыт), а в другой части опытов — капсулярной стороной (20 опытов). Груз снимали после одних суток культивирования или по окончании всего срока культивирования (4—10 суток). В разных сериях в качестве сред использовали: солевой раствор Ниу-Твитти, безбелковую синтетическую среду 199/2 и обогащенную среду 199/2+15% сыворотки крови крупного рогатого скота с добавлением пенициллина (100 м. е./мл), стрептомицина (100  $\mu$ г/мл) и гентамицина (70  $\mu$ г/мл). Во избежание индукционного воздействия белков среды эксплантаты в течение первых суток всегда культивировали только в безбелковых средах. Контролем служило раздельное культивирование названных тканей. Фиксацию и гистологическую обработку производили стандартным методом, окрашивали Азаном по Гейденгайну.

**Результаты.** Линзовый эпителий взрослой лягушки, культивируемый в небогатых средах, сохраняет жизнеспособное состояние, однако объем его клеток остается неизменным и они не образуют волокон. В белковых средах происходит резкое увеличение объема линзовых клеток, однако они не имеют правильной формы и не образуют длинных сравнимых с нормой волокон. Это находится в соответствии с данными по лин-



зовому эпителию зародыша цыпленка (<sup>9</sup>). Эктодерма гастролы при культивировании в безбелковых средах образует только атипичный эпидермис.

При соединении эктодермы с капсулярной стороной линзового эпителия слипаемость тканей в момент постановки опыта низкая. Но под грузом эктодерма прилипает к капсуле, и плотный контакт тканей сохраняется в дальнейшем в течение всего срока культивирования. Благодаря кон-

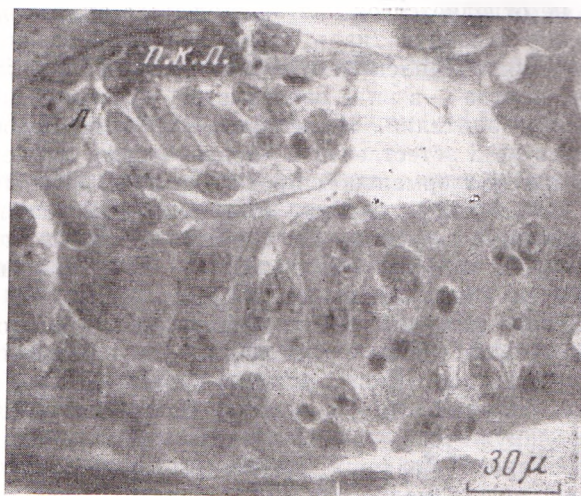


Рис. 2. Лентоид (л), образованный из эктодермы гастролы. Рядом с ним (вверху) пигментированные клетки (п.к.л.). Культура развивалась 6 дней. Груз был удален по истечении первых суток культивирования. Обогащенная среда

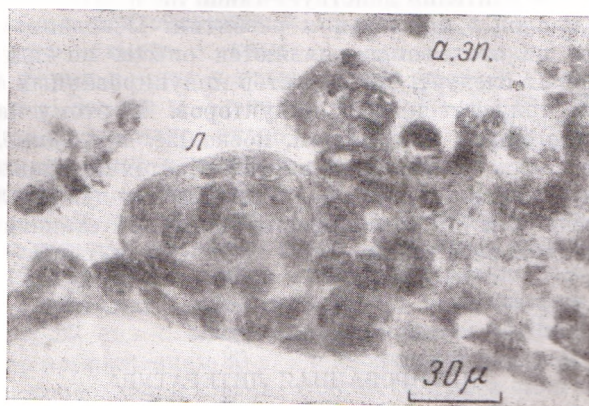


Рис. 3. Лентоид эктодермального происхождения (л). Вблизи него — клетки атипичного эпидермиса (а.эп.). Культуре 7 дней. Груз удален при фиксации. Среда безбелковая

такту с капсулой эктодерма не образует атипичного рыхлого эпидермиса, а упорядочивается вдоль по капсулярной основе. Эктодермальные клетки несколько вытягиваются, поляризуются и незначительно депигментируются. Описанные изменения являются признаками эпителиальной дифференцировки, и можно думать, что капсула с ее коллагеновой основой заменяет собой мезодермальную строму. В эксплантатах этого типа никакой другой ткани, кроме эпителиальной, не было обнаружено.

При контакте эктодермы с клеточной поверхностью линзового эпителия в первый момент возникает сильное положительное сродство взаимодействующих тканей, но затем поверхностные свойства меняются и даже груз не может способствовать удержанию этих тканей в контакте — эктодерма выползает из-под груза, отрывается от линзового эпителия и свободно плавает в среде. Такие отделившиеся эктодермальные образования развиваются только в атипичный губчатый эпидермис. Но часть эктодермальных клеток не отделяется от клеток линзового эпителия и трансформируется в молодую линзовую ткань. Молодые линзы, развившиеся из эктодермы, оказываются вкрапленными в ткань линзового эпителия иногда в виде лентоидов, иногда — в виде слоя клеток, примыкающих к клеткам исходного линзового эпителия. Идентификация этих новообразованных линз производилась по 2 естественным биологическим маркерам, позволяющим судить об их эктодермальном происхождении. Первым таким маркером являются пигментные гранулы, которые содержатся в клетках наружного слоя эктодермы гастролы. Пигментные гранулы сопутствуют молодой линзовой ткани (рис. 2), тогда как в ткани линзового эпителия взрослых лягушек не обнаруживаются. Надо полагать, что при дальнейшей дифференцировке они были бы элиминированы, как это имеет место при нормальном развитии линзы из эктодермы или при регенерации ее из края радужины у тритонов. Другой критерий идентификации новообразованных линз — это наличие в них в ряде случаев желточных гранул. Последние можно обнаружить в трансформированных клетках вплоть до 7 дня культивирования. В белковых средах особенно отчетлива разница между новообразованными молодыми линзами и исходным линзовым эпителием (рис. 2, 3). В безбелковых средах, где синтез белка в линзовых клетках подавлен<sup>(9)</sup>, разница между новообразованными линзами и клетками исходного линзового эпителия менее отчетлива.

Полученные результаты подтверждают справедливость исходной гипотезы и указывают на существование в линзовом эпителии способности вызывать строго специфичную индукцию ассимиляторного типа. Означает ли это, что в линзовом эпителии действует такой же фактор, как и при индукции линзовых плакод в нормальном развитии? Основанием для положительного ответа на этот вопрос являются опыты по аддитивной индукции<sup>(7)</sup>, из которых следует, что характер индуцированных структур является критерием тождественности индукторов. И этому не противоречат данные по гетерогенным индукторам, поскольку последние, вероятно, содержат в себе смесь разных индукторов. Настоящие данные завершают картину последовательной смены фаз в процессе индукции линзы, показывая, что в конечном итоге сам линзовый эпителий становится способным к индукции подобной себе ткани.

Институт биологии развития  
Академии наук СССР  
Москва

Поступило  
1 VI 1973

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Г. В. Лопашов, О. Г. Строева, Развитие глаза в свете экспериментальных исследований, М., 1963.
- <sup>2</sup> A. J. Coulombre, Invest. Ophthalm., 4, 411 (1965).
- <sup>3</sup> O. A. Hoperskaya, Roux Arch. Entw.-Mech., 171, 1 (1972).
- <sup>4</sup> C. Grobstein, Nat. Concer Inst. Monogr., 26, 279 (1967).
- <sup>5</sup> J. Holtfreter, Roux Arch. Entw.-Mech., 138, 657 (1938).
- <sup>6</sup> J. Holtfreter, V. Hamburger, In: Analysis of Development, Philadelphia — London, 1955, p. 230.
- <sup>7</sup> A. G. Jacobson, Science, 152, 25 (1966).
- <sup>8</sup> R. A. Laskey, J. Cell Sci., 7, 653 (1970).
- <sup>9</sup> G. W. Philpott, Exp. Cell Res., 59 (1970).
- <sup>10</sup> G. W. Philpott, A. J. Coulombre, Exp. Cell Res., 52, 140 (1968).
- <sup>11</sup> R. W. Reyer, J. Exp. Zool., 151, 123 (1962).
- <sup>12</sup> R. Rugh, Experimental Embryology, Minneapolis, 1962.
- <sup>13</sup> H. Tiedemann, In: Control Mechanisms of Growth and Differentiation, Cambridge, 1971, p. 235.
- <sup>14</sup> C. von Woellwarth, Embryologia, 6, 219 (1961).
- <sup>15</sup> E. Wolff, Current Topics in Devel. Biol., 3, 65 (1968).