

Ю. А. МАГАКЯН

НЕКОТОРЫЕ ВОПРОСЫ РЕГУЛЯЦИИ РОСТА В ЭМБРИОНАЛЬНОМ РАЗВИТИИ

Несмотря на большое количество работ, посвященных проблеме регуляции эмбриогенетических процессов, она все еще остается нерешенной. Очевидно, что вся система регуляции роста и дифференцировки двух основных процессов эмбрионального развития складывается из иерархии отдельных взаимосвязанных «механизмов»: от внутри- и межклеточных взаимоотношений до таких сложных интегрированных систем регуляции, как нервная и гормональная. Очевидно также и то, что в процессе эмбриогенеза происходит своего рода перераспределение ролей в этом сложном комплексе регуляторных «механизмов», обуславливаемое степенью развития зародыша. В раннем эмбриогенезе, когда высокодифференцированные системы находятся на стадии закладки, доминирующую роль играют внутри- и межклеточные «механизмы» регуляции, в основе которых лежат взаимокоррелирующиеся отношения высокомолекулярных соединений, определяющие, в конечном итоге, ход дифференцировки и рост зародышевых тканей. Поэтому установление количественных характеристик наиболее существенных сторон роста и дифференцировки в норме и при различных нарушениях, вызываемых экспериментальным путем, должно способствовать раскрытию «механизмов» регуляции этих процессов.

В эмбриогенезе различных видов позвоночных обнаруживается ряд индуцирующих агентов, образующих противоположно направленные градиенты, природа которых до сих пор не может считаться твердо установленной. Одни исследователи [30—32*] считают, что вещества, избирательно подавляющие или, наоборот, стимулирующие развитие той или иной ткани, являются белками, другие [29, 36—38] отдают предпочтительную роль в явлениях индукции рибонуклеопротеидам и третьи [23—27]—РНК. Однако, если подойти к регуляции развития не как к отдельному акту действия и не как к определенному взаимодействию, а как к закономерному движению во времени и пространстве множеств компонентов [11], взаимосвязанных и скоррелированных наследственной информацией, то можно с достаточной убежденностью считать, что все индуцирующие вещества или группы веществ являются звеньями одной цепи. Начальным звеном в ней является генетическая информация, а каждое следующее звено или звенья — это информация, распределяющаяся в различной степени в динамичном комплексе веществ (нуклеино-

* В этом разделе цитируются главным образом обзорные или итоговые работы.

вых кислот, нуклеопротеидов, структурных белков и энзимов), находящихся в неустойчивом равновесии [12].

Можно предположить, что наиболее интимным способом осуществления регуляторной функции является выделение клетками нуклеопротеиновых комплексов, характер действия которых должен определяться их специфической структурой, детерминированной, в свою очередь, информацией ДНК. Приняв сказанное за рабочую гипотезу, мы попытались в качестве активного действующего начала использовать ДНК, предполагая, что количественные характеристики изменений в развитии реципиента, вызванных введением этого соединения, позволят судить о его роли в регуляции процессов роста и дифференцировки.

Поскольку в настоящем сообщении невозможно охватить все стороны рассматриваемой проблемы, мы ограничимся изложением и обсуждением экспериментальных данных лишь по вопросу участия ДНК в регуляции эмбрионального роста.

Материал и методика*. В качестве тест-объектов использовались эмбрионы птиц, что вызывалось необходимостью максимально ограничить непосредственное влияние материнского организма на развитие. Инкубация яиц проводилась в лабораторном инкубаторе с автоматической регулировкой и непрерывной регистрацией режимов температуры и влажности. ДНК вводилась на физиологическом растворе (0,5 мг/см³) на ранних стадиях развития эмбрионов в подзародышевую полость, затем — в желточные, а на еще более поздних стадиях — в аллантоидные вены, с помощью прибора для микроинъекций, предложенного Лейбсоном и Плисецкой [2] и усовершенствованного автором. Для эмбрионов различного возраста дозы инъецируемой ДНК были определены эмпирически и будут приведены при изложении экспериментального материала. Обычно вводилось от 0,1 до 0,5 мл раствора (0,05—0,25 мг ДНК). Превышение оптимальных доз приводило к быстрой гибели зародышей, дозы же ниже оптимальных не вызывали заметных сдвигов в их развитии.

ДНК выделялась из тканей различных органов (головной мозг, печень, почка) млекопитающих (кролик, овца, свинья, собака) и птиц (куры, утки, индейка, гусь) по несколько видоизмененной методике Мирского и Поллистера [21]. После многократной очистки ДНП переосаждением, ДНК экстрагировалась при продолжительном встряхивании в растворе 1 М NaCl-хлороформ-бутанол (вместо октилового спирта в оригинальной методике) в соотношении 10 : 4 : 1 и фракционировалась центрифугированием до полного исчезновения белкового слоя, осаждалась в этаноле, очищалась многократным переосаждением и высушивалась сначала в эфире, а затем в вакуум-сушке. Сохранялась полученная ДНК либо под абсолютным спиртом при —12°C, либо в растворе 0,14 М

* Данное сообщение является по существу первым в серии предполагаемых статей по рассматриваемому вопросу, поэтому методическая часть исследований излагается достаточно подробно.

NaCl при 0°C. Препараты ДНК исследовались на присутствие белка (по содержанию азота и фосфора), определялась полимерность ДНК и нативность ее измерением гипохромизма и температуры плавления. Количество азота в различных препаратах колебалось от 0,0492 до 0,0587 мг/мл. Количество фосфора—от 0,0283 до 0,0330 мг/мл. Соотношение азота к фосфору при этом оказалось равным 1,77—1,74. Молярный коэффициент экстинкции лежал в пределах 6550—7100.

Контрольным эмбрионам вводилась денатурированная кратковременным нагреванием (10—30 мин.) до 100°C и последующим охлаждением в ледяной воде (для предотвращения агрегации) ДНК, а также чистый физиологический раствор в тех же количествах, что и нативная ДНК в подопытных группах. Третья часть контрольных эмбрионов оставалась интактной.

При постановке экспериментов мы исходили из того, что введение чужеродной ДНК непосредственно в организм эмбриона на ранних стадиях развития может нарушить систему детерминации, обеспечивающую нормальное течение эмбриогенеза, индуцируя реакции, не свойственные данному типу развития. Иначе говоря, была применена классическая схема опытов, принятая в экспериментальной эмбриологии, однако индуцирующим агентом являлось лишь одно высокомолекулярное соединение, благодаря чему удалось анализировать действие конкретного вещества, а не их комплекса.

Для выявления возможных сдвигов в процессах роста эмбрионов-реципиентов по отношению к контрольным были сняты следующие количественные характеристики, тесно связанные одна с другой: абсолютный вес и коэффициенты роста эмбрионов и отдельных органов, их относительный вес, коэффициенты митотической активности, «концентрация» ядер в определенном объеме ткани [8], процент многоядерных клеток, коэффициенты ядерно-цитоплазматических отношений и пр. Однако в данном сообщении будут представлены материалы, характеризующие лишь рост эмбрионов в целом.

Анализ роста эмбрионов проводился по следующей методике. Исходя из закона органического роста, по которому величина массы, растущей с постоянной скоростью, измеряется по формуле:

$$V = v_0 \cdot e^{ct},$$

где v_0 —начальная величина во время— t , а c —скорость роста, мы путем логарифмирования* определяли скорость роста по формуле:

$$C_v = \frac{(\lg v_2 - \lg v_1) \cdot 2,3026}{t_2 - t_1}$$

в каждый данный отрезок времени ($t_2 - t_1$, $t_3 - t_2$, $t_4 - t_3$ и т. д.). При этом было учтено, что еще в 30 годах многочисленными исследователями

* При вычислении средних величин мы использовали не абсолютные данные, а их логарифмы (геометрическая средняя), так как константы роста эмбрионов, как будет видно дальше, много выше 1.

[9, 10, 20, 22] было показано, что скорость роста, вычисленная по этой формуле (экспоненциальный рост), предполагает постоянство условий, в которых протекает рост. В действительности же в эмбриогенезе это постоянство исключается самим ходом развития, включающего в себя и рост, и дифференцировку, а скорость роста в определенный (достаточно большой) промежуток времени выражается формулой параболы:

$$v = mt^k,$$

где m — начальная масса, а k — константа роста во время t . Принимая, что $v_1 = mt_1^k$, $v_2 = mt_2^k$ и т. д., для всего эмбриогенеза мы определяли константы роста по Шмальгаузену [10]:

$$k = C_v \cdot \frac{t_2 - t_1}{2},$$

которые более точно характеризуют интенсивность роста эмбрионов, чем простое вычисление скорости роста, и создают условия для сравнения двух и более объектов вне зависимости от времени, так как время входит в константу роста в виде отношения двух величин*.

В тех случаях, когда наблюдений было не очень много ($n < 30$), мы оперировали не средними значениями, а индивидуальными данными по всему исследованному периоду эмбриогенеза, вычисляя константы роста по способу наименьших квадратов:

$$K = \frac{N \sum \lg v_i t_i - \sum \lg v_i \cdot \sum \lg t_i}{N \sum \lg^2 t_i - (\sum \lg t_i)^2},$$

где N — число индивидуальных данных (объем совокупности), v_i — все индивидуальные размеры, а t_i — соответствующие возрасты. При этом мы исходили из обоснованного в свое время Шмальгаузеном [10] положения о том, что если рост данного объекта является строго закономерным, а вычисление производится для действительно однородного, естественного периода роста (например эмбриогенеза), то все отклонения подопытных эмбрионов от кривой роста контрольных эмбрионов носят не случайный, а закономерный характер. Уже при наличии всего 50 индивидуальных данных в этих случаях получаются вполне достоверные результаты для обследуемого периода, что является важным условием для исследований в области экспериментальной эмбриологии, когда количество индивидуальных данных почти всегда весьма ограничено. Индивидуальные отклонения (ξ_i) полученных в эксперименте величин

* Скорость роста определяется делением логарифмического прироста на время константа роста — умножением скорости роста на время, поэтому значение k не зависит от избранной единицы времени [10]. Метод определения скорости роста, предложенный Шмальгаузеном, по мнению Бергаланффи [13] и Винберга [1], не может быть принят за основу биологического роста, так как удельная скорость роста рассматривается им как функция времени, а не как функция достигнутой величины животного. Однако указанные авторы не учитывают того, что при этом появляется возможность объективного сравнения роста в разные промежутки времени.

(v_i), от средних теоретических, положенных в основу графического анализа, определялись по формуле:

$$\xi_i = \lg \hat{x} + k \lg t - \lg v_i,$$

где

$$\lg v = \lg \hat{x} + k \lg t,$$

а

$$\lg \hat{x} = \frac{\sum \lg v_i \cdot \sum \lg^2 t_i - \sum \lg v_i \cdot \lg t_i \cdot \sum \lg t_i}{N \sum \lg^2 t_i - (\sum \lg t_i)^2}.$$

Затем величины отклонений возводились в квадрат и средняя ошибка (S_x) вычислялась по формуле:

$$S_x = \pm \sqrt{\frac{N}{N \sum \lg^2 t_i - (\sum \lg t_i)^2} \cdot \frac{\sum \xi_i^2}{N-2}}.$$

Относительный вес подопытных эмбрионов рассчитывался по общепринятой формуле:

$$W_e = \frac{v_e \cdot 100}{v_k},$$

после статистической обработки составлялись гистограммы.

Результаты исследований. Прежде всего необходимо вкратце остановиться на характеристике роста контрольных (интактных) эмбрионов тех видов птиц, которые были использованы в экспериментах. В наших исследованиях основными объектами были эмбрионы, полученные от пекинской и мускусной уток и кур пород леггорн и белый плимутрок. Данные о характере роста этих эмбрионов приводятся на рис. 1.

Как видим, кривые роста в абсолютных цифрах дают возможность характеризовать эмбриональный рост исследованных форм, как параболический, что лишним раз подтверждает справедливость суждений Шмальгаузена [10]. Наиболее четко параболический характер роста проявляется у эмбрионов кур—быстрорастущей формы. Тип роста относительно медленнее растущих форм с растянутым периодом эмбриогенеза—пекинской и, в особенности, мускусной уток,—приближается к «логистической» кривой Пирля [28], имеющей S-образную форму. Имея в виду несимметричность

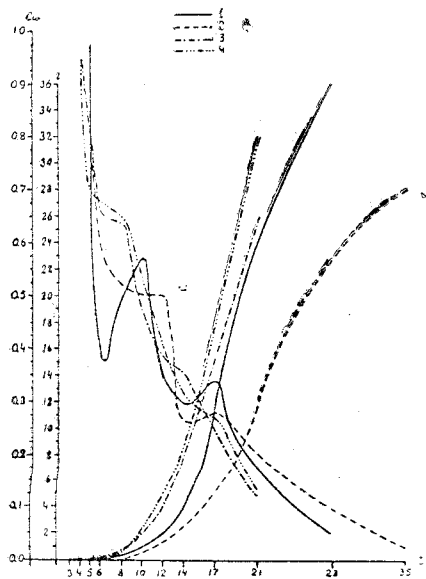


Рис. 1. Различия в динамике роста эмбрионов: 1—пекинской утки; 2—мускусной утки; 3—кур (леггорн) и 4—кур (белый плимутрок), в норме. g —абсолютный вес, C_v —скорость роста, t — время в сутках.

кривой роста у эмбрионов уток и чисто параболический характер их роста в течение большей части эмбриогенеза, мы, однако, сочли возможным не прибегать к вычислению констант роста по формуле Пирля для «логистической» кривой, а ограничились вышеприведенными формулами, дающими вполне приемлемые результаты и в этих случаях. Приводимые данные свидетельствуют о том, что даже у относительно близких форм животных характер роста эмбрионов имеет существенные различия, которые, естественно, следует учитывать при анализе экспериментального материала. Эти различия еще более четко выступают при рассмотрении кривых скорости роста (C_v). Если кривая скорости роста эмбрионов пекинской утки, сохраняя общую тенденцию стремления к гиперболе (рис. 1), имеет ломаный вид со спадами и пиками, в той или иной степени характеризующими неравномерный рост, то кривые скорости роста эмбрионов мускусной утки и, в особенности, эмбрионов обеих пород кур, свидетельствуют о гораздо более спокойном характере роста.

В целом скорость роста всех исследованных форм, вычисленная для всего эмбриогенеза (K), несмотря на значительные отклонения на различных фазах развития, лежит в пределах, характерных для эмбрионов птиц, и составляет для эмбрионов пекинской утки $4,030 \pm 0,203$, мускусной утки— $3,988 \pm 0,610$, леггорна— $3,941 \pm 0,098$ и белого плимутрока— $3,711 \pm 0,232$. Критерий достоверности различий для этих форм несмотря на $n \geq 50$ ниже 3, поэтому можно предполагать, что скорость роста эмбрионов птиц в большой степени определяется условиями развития, строго ограниченным пространством и питательными запасами яйца.

Введение различных ДНК существенным образом влияет на динамику роста эмбрионов-реципиентов. Выделенная из клеток головного мозга кур и инъецированная на 4 сутки развития эмбрионам пекинской утки (гетерогенетическая по отношению к реципиенту) ДНК вызывает резкое повышение интенсивности их роста с 5 по 8 сутки по сравнению с контрольными эмбрионами (рис. 2), после чего интенсивность роста подопытных эмбрионов имеет значения ниже, чем у контрольных, а затем, начиная с 17 суток, практически выравнивается с контрольными. Первый пик нарастания скорости роста, приходящийся на 10 сутки у контрольных эмбрионов, при этом полностью исчезает, однако второй пик (17 сутки) выражен значительно четче. Введение ДНК головного мозга кур эмбрионам мускусной утки также вызывает значительные сдвиги в интенсивности роста последних, по своему характеру весьма близкие к описанным выше (рис. 2). Точно такое же действие оказывает введение ДНК, выделенной из тканей головного мозга других видов позвоночных (кролика, овцы), если соблюдаются те же дозы и сроки введения.

Изложенное позволяет предполагать, что для регуляции роста эмбрионов на этих стадиях развития принадлежность ДНК тому или иному виду животного-донора не имеет решающего значения. Как будет по-

казано ниже, гораздо более существенным оказывается фактор времени, определяемый сроками инъектирования ДНК.

Кривые роста эмбрионов пекинской утки, которым вводилась ДНК, выделенная из печени свиньи, на 4, 5 и 6 сутки развития, приводятся на рис. 3. Введение указанной ДНК на 4 сутки вызывает ростовые реакции, практически не отличающиеся от описанных выше (рис. 2 и рис. 3), в

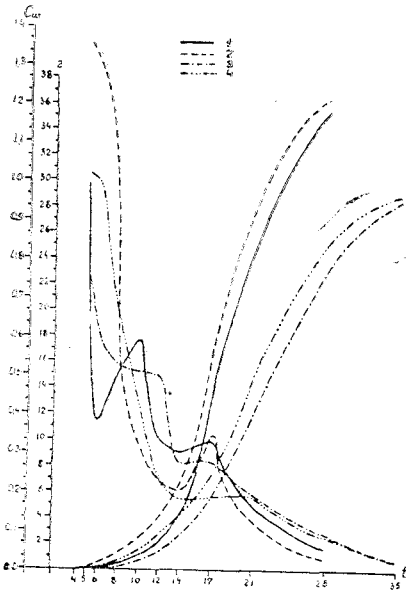


Рис. 2. Динамика абсолютного веса и скорости роста эмбрионов пекинской и мускусной уток в норме и под воздействием гетерогенетической ДНК головного мозга кур. 1—пекинская утка, контроль; 2—пекинская утка, введение ДНК —0,05 мг на 4 сутки; 3—мускусная утка, контроль; 4—введение ДНК — 0,04 мг на 4 сутки.

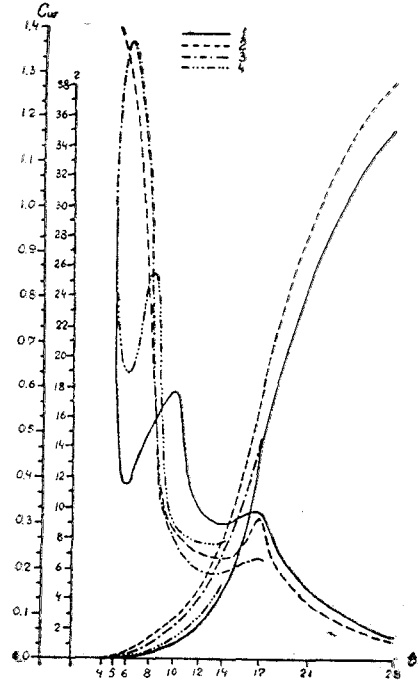


Рис. 3. Динамика абсолютного веса и скорости роста эмбрионов пекинской утки в норме и под воздействием гетерогенетической ДНК печени свиньи, инъектированной на различных стадиях развития реципиентов. 1—контроль; 2—введение ДНК —0,1 мг на 4 сутки; 3—то же,—0,2 мг на 5 сутки; 4—то же,—0,35 мг на 6 сутки.

то время как инъектирование той же ДНК на 5 и 6 сутки приводит к совершенно иным результатам: скорость роста в первом случае резко возрастает на следующие сутки после введения ДНК, достигая значений, характерных для эмбрионов, инъектированных на 4 сутки, затем падает и удерживается на низком уровне, во втором — отмечается незначительное повышение скорости роста на вторые сутки после инъекции и затем резкий спад. Общий характер кривой скорости роста в последнем случае достаточно близок к контрольной группе. Это свидетельствует о замедленном типе реакций более развитых эмбрионов на введение гетерогенетической ДНК по сравнению с ранними эмбрионами. В целом скорость роста эмбрионов (К), которым ДНК вводилась в более поздние сроки,

имеет тенденцию к снижению ($4,321 \pm 0,342$, $4,001 \pm 0,144$, $3,749 \pm 0,281$ соответственно), несмотря на повышение доз вводимой ДНК, что также говорит о падении с возрастом реактивности эмбрионов (в «генерализованном» плане) на введение чужеродной ДНК.

Выше отмечалось, что видовая принадлежность ДНК не имеет решающего значения для регуляции роста эмбриона, так как характер ответных реакций для всех использованных ДНК, при соблюдении аналогичных условий их введения, практически тождествен. Однако это справедливо лишь для гетерогенетических ДНК. Введение гомогенетической ДНК приводит к иным результатам. Если после введения гетерогенетической ДНК, как правило, наблюдается интенсификация роста эмбрионов на ранних фазах развития, то введение гомогенетической ДНК резко тормозит скорость роста эмбрионов-реципиентов (рис. 4). При этом также изменяется характер кривой роста, но не в том плане, как это можно было наблюдать при введении гетерогенетических ДНК. При инъектировании гомогенетической ДНК подавление скорости роста продолжается до 12 суток развития эмбрионов кур, затем скорость роста возрастает и к 14 суткам оказы-

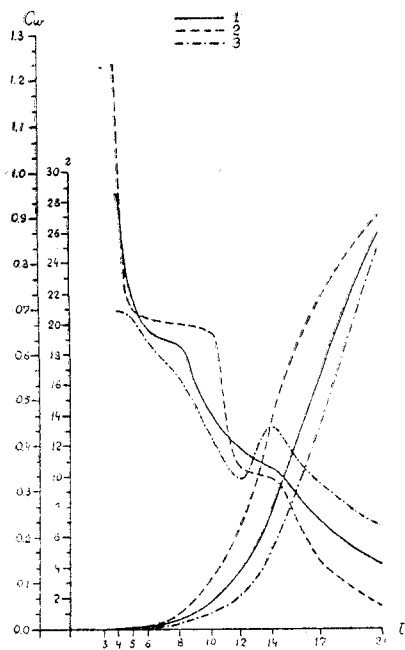


Рис. 4. Различия в динамике роста эмбрионов кур породы леггорн при инъектировании гетерогенетической и гомогенетической ДНК. 1 — контроль; 2 — введение ДНК почки овцы, —0,05 мг на 3 сутки; 3 — введение печени кур (леггорн), —0,05 мг на 3 сутки.

вается выше, чем у контрольных эмбрионов, сохраняя более высокие значения вплоть до вылупления. Интересно, что как при введении гомогенетической, так и гетерогенетической ДНК перелом в скорости роста происходит между 12 и 14 сутками развития эмбрионов кур (рис. 4), с той лишь разницей, что при введении гомогенетической ДНК скорость роста подопытных эмбрионов с этого времени превышает скорость роста контрольных, а при введении гетерогенетической ДНК она оказывается ниже, чем в контроле. Этот немаловажный факт приобретает еще большее значение, если учесть, что именно с этого времени у эмбрионов кур начинается плодный период развития. Такое же явление наблюдается у эмбрионов пекинской утки на 17 сутки, а у эмбрионов мускусной утки на 21 сутки развития, т. е. также во время перехода от зародышевого к плодному периоду развития (рис. 2).

Плодный период, помимо прочих признаков, характеризуется тем, что большинство эндокринных органов и относительно высокоразвитая

разная система приобретают возможность дифференциально контролировать и участвовать в регуляции деятельности различных функциональных систем. С этого времени в полной мере раскрываются коррелятивные отношения между различными высокоинтегрированными функциональными системами эмбриона, детерминированные всем филогенезом и, в связи с этим, с большим трудом выводящиеся из равновесного состояния. Не лишне отметить, что, когда введение той или иной ДНК оказывало сильное действие (при использовании несколько больших доз, чем обычно) и организм эмбриона при помощи компенсаторных реакций не мог восстановить равновесное состояние, присущее данному типу развития, то наступала гибель эмбриона, которая в большинстве случаев приходилась на первые сутки плодного периода развития. То же явление отмечалось при инъектировании ДНК на сравнительно поздних фазах зародышевого развития. Возможно, это явление обуславливается также и тем, что интенсивность роста подвергнутых обработке эмбрионов превышает интенсивность роста питающих оболочек (обладающих определенной автономией), как это было показано нами ранее [3], отстающих в своем развитии от степени развития эмбрионов, при интенсификации последнего тем или иным способом.

Интересно проследить за отклонениями в весе эмбрионов-реципиентов от нормы в зависимости от введения различных ДНК и сроков их введения. На представленных ниже гистограммах (рис. 5) видно, что введение гетерогенетической ДНК, как правило, приводит к резкому увеличению относительного веса зародышей-реципиентов, однако это *нарастание веса происходит не сразу, а постепенно и лишь через несколько дней достигает максимума*. Для пекинской утки этот максимум приходится на 8 сутки в случае, если инъекция ДНК производилась на 4 сутки развития. У эмбрионов мускусной утки наибольшие отклонения в весе наблюдаются на 10 сутки, причем они менее выражены, чем у первых. У кур, наоборот, этот пик смещен вперед: при введении ДНК на 3 сутки максимум отклонений в весе наблюдается на 5 сутки.

Таким образом, у эмбрионов мускусной утки полная реализация информации, стимулирующая рост, наступает лишь на 6 сутки после ее поступления с введенной ДНК, у эмбрионов пекинской утки—на 4 сутки, а у эмбрионов кур—на 2. Эти различия определяются потенциальной энергией роста, которая должна быть тем большей, чем интенсивнее скорость роста ранних зародышей. Однако необходимо отметить, что указанные сроки максимальной реализации, стимулирующей рост информации, справедливы лишь для тех случаев, когда использовалась ДНК, выделенная из головного мозга. При введении ДНК печени или почки (в те же сроки и в тех же дозах) пики максимальных отклонений у подопытных эмбрионов смещаются на более поздние фазы развития (гистограммы г, д и е на рис. 5). Для куриных эмбрионов они соответственно приходятся на 8 и на 10 сутки. Эти различия определяются гетерохронией и компетентностью различных тканей подопытных эмбрионов

к вводимой ДНК. Затронутый вопрос представляет большой интерес и будет обсужден в последующих сообщениях.

Наконец, заслуживает внимания тот факт, что максимум отклонений в весе подопытных эмбрионов различных видов птиц достигает разных значений (рис. 5). Наибольшие отклонения отмечаются у эмбрионов пекинской утки, наименьшие—у кур, эмбрионы мускусной утки занимают промежуточное положение. Нам пока трудно объяснить полученные результаты. Весьма вероятно, что это определяется запасами питатель-

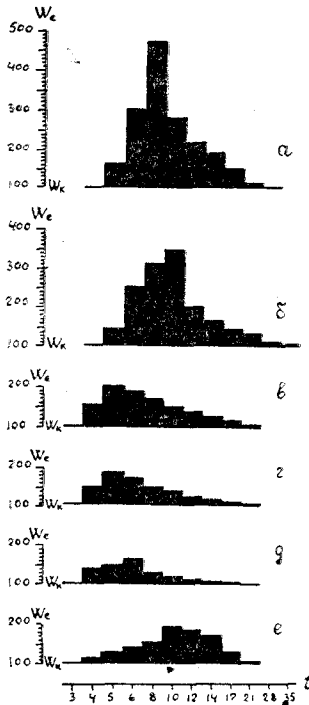


Рис. 5. Отклонения в весе эмбрионов-реципиентов от нормы после инъекций гетерогенетических ДНК. W_e — относительный вес подопытных эмбрионов в %; W_k — контроль; t — время в сутках. а — введение ДНК головного мозга кур (леггорн) эмбрионам пекинской утки, —0,05 мг на 4 сутки; б — то же эмбрионам мускусной утки, —0,05 мг на 5 сутки; в — введение ДНК головного мозга кролика эмбрионам кур породы белый плимутрок, —0,05 мг на 3 сутки; г — то же, эмбрионам кур породы леггорн, —0,05 мг на 3 сутки; д — введение ДНК печени овцы эмбрионам кур породы леггорн, —0,05 мг на 3 сутки и е — введение ДНК почки овцы эмбрионам тех же кур в те же сроки.

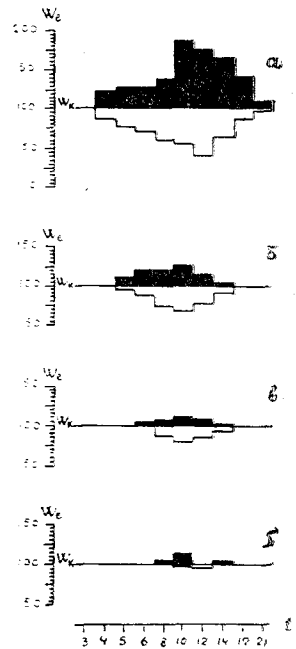


Рис. 6. Различия в реакции эмбрионов-реципиентов (леггорн) на введение ■ — гетерогенетической ДНК почки кролика и □ — гомогенетической ДНК печени кур породы леггорн. а — 0,05 мг на 3 сутки, б — 0,10 мг на 4 сутки, в — 0,15 мг на 5 сутки и д — 0,20 мг на 6 сутки.

ных веществ, заключенных в яйце, и возможностями их реализации. Яйца пекинских уток обладают наибольшими размерами, затем в убывающем порядке следуют яйца мускусной утки, белого плимутрока и леггорна. Что касается потенциальных возможностей реализации питатель-

ных веществ, заключенных в яйце, то они также должны быть выше у эмбрионов пекинской утки, так как ко времени пиковых отклонений в весе эмбрионы пекинской утки обладают наиболее мощной хорियो-аллантоидной плацентой, а куры—наименее развитой. И по этому показателю эмбрионы мускусной утки занимают промежуточное положение.

В заключение остановимся на сравнительном анализе весовых показателей при введении гомо- и гетерогенетической ДНК в различные сроки развития эмбрионам-реципиентам. На гистограммах а, б, в и г (рис. 6) видно, что в отличие от гетерогенетической гомогенетическая ДНК в результате подавления скорости роста приводит к существенному снижению относительного веса подопытных эмбрионов, гистограмма которого является почти «зеркальной» по отношению к гистограмме относительного веса подопытных эмбрионов, обработанных гетерогенетической ДНК. Наиболее резкие отклонения в весе от нормы наблюдаются при ранних инъекциях (для куриных эмбрионов на 3 сутки). Несмотря на увеличивающиеся дозы вводимой ДНК, воздействие более поздних инъекций проявляется аналогично ранним, но в убывающей степени. Поэтому введение куриным эмбрионам на 5 сутки той или иной ДНК уже не дает существенного эффекта, а небольшие отклонения, наблюдаемые на гистограммах, недостоверны.

Следует рассмотреть также вопрос о контроле. В начале данного раздела были представлены характеристики роста интактных эмбрионов, являющихся основной отправной точкой для сравнения с экспериментальным материалом. Характеристики роста контрольных эмбрионов, которым вводился чистый физиологический раствор, ничем не отличаются от таковых у интактных эмбрионов, за исключением того, что непосредственно вслед за инъекцией (даже при оптимальных дозах), так же как и у подопытных эмбрионов наблюдается весьма короткая (не более 1—2 час.) задержка в росте, которая объясняется оперативным вмешательством и при соблюдении условий стерильности не отражается сколько-нибудь заметно на дальнейшем развитии эмбриона. Введение же денатурированной ДНК вызывает незначительные изменения в скорости роста эмбрионов, которые при статистической обработке во всех случаях оказались недостоверными и поэтому не были приведены в настоящем сообщении. Сравнительный анализ реакций, полученных в результате введения нативной и денатурированной ДНК, показал, что состояние инъекцируемой ДНК имеет гораздо большее значение для регуляции процессов дифференцировки [4].

Обсуждение результатов и выводы. Анализируя приводимый экспериментальный материал, мы придерживались представления о том, что самые интимные «механизмы» регуляции ростовых процессов в эмбриогенезе раскрываются на организменном уровне и изменения, происходящие на уровне межмолекулярных и межклеточных взаимоотношений, проявляются в виде изменений в интенсивности и скорости роста, в весовых показателях и пр., поддающихся точному учету и количественному анализу. Используя математические методы обработки эксперименталь-

ного материала, отражающего лишь изменения в весе эмбрионов, удается выявить реакции, возникающие в результате вмешательства в процессы регуляции белковых синтезов с помощью интраэмбриональных инъекций ДНК. Сказанное не означает, что ДНК непосредственно участвует в регуляции роста, тем более на уровнях органа или организма, однако исходя из изложенных в начале статьи представлений о механизме эмбриональной индукции, межклеточных и межмолекулярных взаимодействий в процессе белковых синтезов не трудно наметить пути возможной регуляции ростовых процессов с участием записанной в ДНК информации. Как было показано в свое время Эфрусси [16], зародыш представляет собой весьма удобный объект для обнаружения способа передачи информации именно потому, что эмбриональные клетки обладают двумя важными и связанными между собой свойствами, регулируемые ядерными «механизмами» — способностью к воспроизведению (рост) и способностью к изменению и эволюции (дифференцировка). А именно — общим свойством превращения генетических потенциальных возможностей в реализующиеся биохимические, а в конечном счете, физиологические и морфологические возможности [33—35]. Поэтому принятая методика получения и анализа экспериментального материала, по-видимому, отвечает поставленным задачам. О том, что этот путь экспериментальных эмбриологических исследований целесообразен свидетельствуют многочисленные работы, авторы которых экспериментировали не с ДНК, а другими биополимерами — различными белками, нуклеопротеидами и РНК [15, 15, 19, 23—26, 32, 36—38]. Однако эти работы, за исключением исследований Нью с соавторами [23—26], не позволяют сделать выбор между «механизмами» регуляции типа «шаблона» или типа «специфического предшественника». Отсюда применение чистых препаратов РНК (в экспериментах Нью) и ДНК у нас предполагает возможность ответить на этот вопрос хотя бы в первом приближении.

Прежде всего попытаемся определить параметры синтеза белка в зародыше. Таких возможностей, в известной мере схематично, можно наметить три: 1) синтез любого белка осуществляется путем перестройки белков-предшественников [18]; 2) синтез белка осуществляется путем присоединения аминокислот к уже существующим белкам-предшественникам или пептидам [17] и 3) синтез идет из аминокислот с помощью «шаблона» (ДНК или РНК). При рассмотрении работ, проведенных на бактериях, подавляющее большинство данных говорит в пользу третьей возможности. При изучении же позвоночных картина не столь ясна. Тем не менее работы Нью и наши исследования позволяют, как нам кажется, сделать вывод о предпочтительности третьей возможности перед первыми двумя, по крайней мере для ранних стадий эмбриогенеза. Препараты РНК или ДНК, будучи введенными в организм реципиента, должны, по нашим предположениям, играть роль «шаблона» для синтеза специфических белков, определяющих, в конце концов, реакции, проявляющиеся либо в виде изменений в морфогенезе [4, 24—27], либо в виде изменений

в процессах роста. Различные препараты ДНК обладают известной специфичностью и различной индуцирующей активностью. Имеющиеся в нашем распоряжении данные [3—5] и литературные сведения [19] говорят о том, что явление органоспецифической локализации, уже наблюдавшееся ранее при трансплантации в хорио-аллантоис, можно воспроизвести путем интраэмбриональных инъекций не только стимулируя рост, но и видоизменяя морфогенез отдельных органов. Это доказательство существенного сходства воспроизводимых различными способами явлений также говорит в пользу третьего предположения и открывает путь к исследованию проблемы регуляции роста и дифференцировки прямыми биохимическими методами, позволяя отказаться от более сложных «старых» методов экспериментальной эмбриологии.

Зоологический институт
АН АрмССР

Поступило 18.XI 1966 г.

ՅՈՒ. Է. ՄԱՂԱՔՅԱՆ

ՍԱՂՄՆԱՅԻՆ ԶԱՐԳԱՅՄԱՆ ՄԵՋ ԱՃԻ ԿԱՐԳԱՎՈՐՄԱՆ
ՄԻ ՔԱՆԻ ԶԱՐՅԵՐԻ ՄԱՍԻՆ

Ա մ փ ո փ ու լ մ

Ուսումնասիրությունների հիմքում ընկած է այն հիպոթեզը, որ էմբրիոգենեզի վաղ ստադիաներում կարգավորող ֆունկցիայի իրականացման ամենահավանական եղանակը նուկլեոպրոտեպինային կոմպլեքսների արտադրումն է բջիջների կողմից: Ազդեցության բնույթը որոշվում է նրանց յուրահատուկ կառուցվածքով, ԴՆԹ-ի դետերմինացված ինֆորմացիայով: Իր հերթին, միջմուկուլային և միջբջջային փոխհարաբերությունների մակարդակի վրա առաջացած փոփոխությունները, վերջին հաշվով, արտացոլվում են ֆիզիոլոգիական ու մորֆոլոգիական առանձնահատկությունների փոփոխություններում: Ուստի, օգտագործելով փորձնական նյութի անալիզի մասինմատիկական մեթոդները, որոնք բնորոշում են սաղմերի աճման լոկ քանակական պարամետրերը, հաջողվում է վեր հանել սպիտակուցների սինթեզների պրոցեսների կարգավորման ԴՆԹ-ի ներսաղմնային ներարկմամբ միջամտելու հետևանքով առաջացած անակցիաները: Թուղունների էմբրիոգենեզի տարբեր ստադիաներում ԴՆԹ-ի պրեպարատների տարբեր դոզաների ներարկման՝ նրանց տարբեր տեսակային ու օրգանային պատկանելության դեպքում, հնարավոր եղավ ցույց տալ, որ հետերոգենետիկական ԴՆԹ-ն (այլ տեսակի) ինտենսիվացնում է վաղ ստադիայում ներարկված սաղմերի աճը և աչքի բնկնող փոփոխություններ չի առաջացնում ավելի ուշ ներարկումների դեպքում, շնչալից զոզանների ավելացմանը: Համոգենետիկական ԴՆԹ-ն կասեցնում է սաղմերի աճը:

Աճը խթանող կամ կասեցնող ինֆորմացիայի մաքսիմալ իրացումը, դատելով քաշի մեջ առաջացած շեղումներից, նայած սաղմի տեսակին վրա է հասնում ներարկումից 2—8 օր հետո: Դրանից հետո, հավասարակշիռ վիճակը, որը հատուկ է զարգացման տվյալ տիպին, այս կամ այն չափով վերականգնվում է: Մեծ նշանակություն ունի օրգանասպեցիֆիկ լոկալիզացիայի երևույթը արդեն վաղօրոք դիտված բրոն-ալանտոիսում, տրանսպլանտացիայի ժամանակ և վերարտադրող ԴՆԹ-ի ներսաղմնային ներարկումների միջոցով, որոնք ոչ միայն խթանում կամ կասեցնում են աճը, այլև ձևափոխում են օրգանների

կոմպետենտ ու հյուսվածքների մորֆոգենեզը: Երևույթների՝ տարբեր եղանակներով վերարտադրման այդ էական նմանությունների հիման վրա հնարավոր է դառնում աճի կարգավորման պրոբլեմի ռառմնասիրմանը և բարձրակարգ կենդանիների դիֆերենցիացիային մերձենալ անմիջական բիոբիմիակայն մեթոդներով:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Винберг Г. Г. Успехи соврем. биол., 61, 274, 1966.
2. Лейбсон Л. Г. и Плисецкая Э. М. Физиол. журн. СССР, 46, 1163, 1960.
3. Магакян Ю. А. Журнал общей биол., 23, 206, 1962.
4. Магакян Ю. А. Биол. журн. Армении, 19, 2, 21, 1966.
5. Магакян Ю. А. Тез. докл. на VII Всесоюзн. съезде АГЭ, Тбилиси, 1966.
6. Магакян Ю. А., Макарян С. Р., Мосьян И. А., Петросян А. В. Тез. докл. на совещ. «Морфологические и химические изменения в процессе развития клетки», Рига, 1965.
7. Спирин А. С. Биохимия, 23, 656, 1958.
8. Туманишвили Г. Д. Некоторые вопросы регуляции роста живых тканей. Из-во «Мецниереба», Тбилиси, 1965.
9. Шмальгаузен И. И. in Roux, Arch. Entw.-Mech., 109, 1927.
10. Шмальгаузен И. И. В сб. Рост животных, ред. Капланский и др., 8, Биомедгиз, М.—Л., 1935.
11. Эшби У. Р. Введение в кибернетику, ИЛ, М., 1959.
12. Эшби У. Р. Конструкция мозга, ИЛ, М., 1962.
13. Bertalanffi L. Theoretische Biologie. Berlin, 1942.
14. Ebert J. D. Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., 40, 377, 1954.
15. Ebert J. D. in Aspects of Synthesis and Order in Growth. Princeton Univ. Press 69, 1956.
16. Ephrussi B. in Units of Biological Structure and Function. Acad. Press. N—Y 29, 1956.
17. Flavin B., Anfinsen C. B. J. Biol. Chem., 211, 375, 1954.
18. Korik S. A., Chantenne H. Biochim. Biophys. Acta, 13, 209, 1954.
19. Mahler H. R., Walter H., Bulbenko M., Allmann D. W. В сб. Теория информации в биологии, 125, ИЛ, М., 1956.
20. McDowell E. C., Allen E., McDowell C. G. J. Gen. Physiol., 11, 204, 1927.
21. Mirsky A. E., Pollister A. W. J. Gen. Physiol., 30, 117, 1946.
22. Murray H. A. J. Gen. Physiol., 9, 112, 1925.
23. Niu M. C. in Differentiation and Growth, Princeton Univ. Press, 155, 1956.
24. Niu M. C. Anat. Rec., 131, 585, 1958.
25. Niu M. C. Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., 44, 1264, 1958.
26. Niu M. C., Cordova C. C., Niu L. C. Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., 47, 1689, 1961.
27. Niu M. C., Cordova C. C., Niu L. C. Proc. Nat. Acad. Sci., Wash., 48, 1964, 2962.
28. Pearl R. Proc. Amer. Phyl. Soc., 63, 114, 1924.
29. Ranzi S., Gavarossi G., Citterio P. Experientia, 17, 395, 1961.
30. Saxén L., Toivonen S. J. Embryol. Exp. Morphol., 9, 514, 1961.
31. Toivonen S. Rev. Suisse Zool., 57, Suppl. 1, 51, 1950.
32. Toivonen S. Успехи соврем. биол., 55, 87, 1963.
33. Weiss P. The Chemistry and Physiology of Growth, Princeton Univ. Press, 135, 1949.
34. Weiss P. Science, 115, 487, 1952.
35. Weiss P. I. Embryol. Exp. Morphol., 1, 181, 1953.
36. Yamada T. Experientia, 14, 81, 1958.
37. Yamada T. Adv. Morph., 1, 1, 1961.
38. Yamada T., Takata K. Embryologia, 3, 69, 1956.