

Розвиток серця в зародка курчати, трансплантованого в chorio-allantois.

Є. М. Шапіро.

Лабораторія механіки розвитку (зав.— проф. Є. О. Фінкельштейн) Українського
інституту експериментальної медицини (директор — проф. Я. І. Ліфшиц).

У наших експериментах ми поставили завданням з'ясувати залежність розвитку серцевих тканин в ембріогенезі від нормального функціонування цього органу в зародковому житті.

Щодо серця — це питання надзвичайно важливе. Відмінно від більшості органів, воно виконує свою нормальну функцію уже в ранніх стадіях розвитку зародка.

Щоб успішно розв'язати поставлене питання, треба створити такі умови, в яких би серце, розвиваючись далі, припинило виконувати свою нормальну функцію. Отож його доводиться експлантувати і трансплантувати.

Спинімося на відповідних щодо цього роботах за останні два десятиріччя. Їх присвячено, поперше, розвитку експлантованих і трансплантованих закладок серця амфібій і, подруге, розвитку трансплантованих у chorio-allantois сердець зародків птахів.

Початок першої групи робіт поклав фінляндський біолог Екман; 1920 — 1921 і 1924 років він провів досліди над безхвостою амфібією *Bombinator*. Він ізолював закладки серця на ранніх стадіях розвитку разом з ектодермою. Ізольовані шматочки вміщувались у воду; там вони далі розвивалися. Ектодерма тоді утворювала міхурці, в яких були закладки серця.

Екман користувався закладками різних стадій: 1) відкритої медулярної пластинки, 2) замкненої медулярної пластинки і 3) маленького хвостового пупка з 6 — 12 сомітами. Серця розвивалися разом з печінкою. Отож виходить, що ізоляція не була зроблена досить чисто. Тільки в 3 випадках автор вважає, що йому вдалося експлантувати серцеву тканину без ентодерми. Експлантовані закладки серця і далі скорочувалися.

Екман пише, що ізольовані ділянки серця не тільки пульсували, а й набирали типової форми та диференціювалися. Проте, це не potwierджується гістологічними дослідженнями. Stöhr (1924, 1925 pp.), перевіливши досліди Екмана з ізольованими ділянками серця, не добув описаних Екманом результатів. На думку Stöhr'a, експлантат ніколи не набирив типової форми. Він спростовує думку Екмана про цілковиту самодиференціацію серця і вважає, що часткова диференціація стається тільки тоді, коли в експлантаті є інші тканини.

Нарешті, Goerttler (1928 року) старанно ізолював зачатки серця нейрули шляхом попереднього виділення ентодерми із зародка. Закладка серця лишилася в зв'язку тільки з ектодермою, яка і в попередніх дослідах утворювала міхурець із закладкою серця в ньому. Експлантат розвивався у воді або в порожнині іншого зародка, який брали на стадії бластули. Експлантоване серце починало пульсувати одночасно із серцем контрольного зародка. Імплантоване в бластулу, воно, почавши пульсувати, руйнувало молодого хазяїна своїми ударами.

Старанними гістологічними аналізами Goerttler показав, що хоч пульсація й була, але диференціації міокарда не було.

Тепер перейдемо до робіт над ізольованим серцем птахів. Треба відзначити, що для розвитку їх потрібна вища температура й кращі умови живлення. Щоб створити сприятливі умови, їх імплантували в chorio-allantois зародка курчати, що нормально розвивається. Цей орган зародкового дихання, багатий на кровоносні судини, постачає імплантатові достатню для його розвитку кількість поживних речовин і кисню.

Роботи над ізольованим та імплантованим у chorio-allantois серцем курчати дали такі наслідки:

Murray й Huxley (1925 р.) імплантували в chorio-allantois цілі ділянки тіла зародків на ранніх стадіях розвитку. Із їх операцій лише три були вдалі. Докладно описано результати однієї — № 21. У цьому випадку вся передня третина 24-годинного зародка була імплантована в chorio-allantois. Через 4 дні виявлено розвиток ряду органів передньої частини тіла, зокрема частин серця. Автори вважають, що розвинулись bulbus arteriosus і частина шлуночка. Проте, їх рисунки дуже мало доводять таке твердження. Кровоносні судини в імплантаті не розвинулись, і живлення його було коштом врослих кровоносних судин chorio-allantois, які навіть з'єднались із порожниною серця. Диференціація серцевих тканин була затримана, бо в більшій частині це була мезенхіма із зірчастими клітинами. Тільки в передній частині є волокниста структура. Про поперечну посмугованість ніде не згадується.

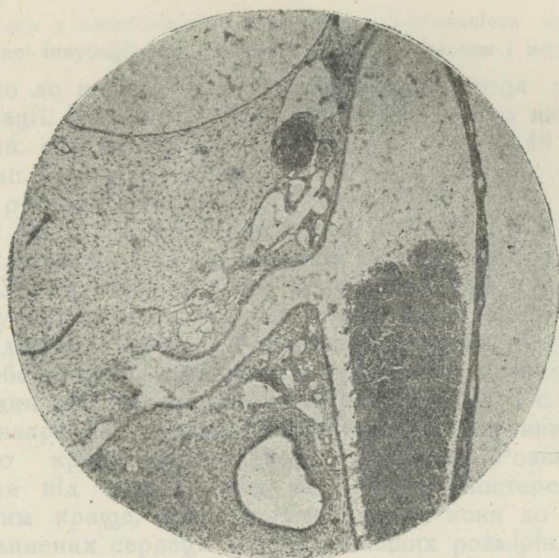
Перші досліди з ізольованим серцем зробили В. Дончакова та А. Гагарін (1929 р.). Вони імплантували в chorio-allantois ізольовані серця зародків віком 3 — 6 днів, і їм рідко коли удавалося простежити анастомози судин chorio-allantois із серцевими порожнинами. Пульсація серця зберігалась протягом багатьох днів, і вони, без всякого гістологічного аналізу, дійшли висновку, що була диференціація м'язової тканини. Таке категоричне твердження безпідставне, бо пульсація не доводить гістологічної диференціації (див. далі).

В. Н. Willier й М. Е. Rawles (1931 р.) імплантували на chorio-allantois всю area pellucida зародків від стадії первинної смужки до стадії 11 сомітів. До того, за їх твердженнями, в серці, яке розвивалось поруч із іншими органами і було пов'язане із судинами chorio-allantois, розвивався міокард. Нарешті, М. Kümé (1935 р.), імплантуючи в chorio-allantois цілі серця та окремі ділянки їх із зародків віком 8 — 20 сомітів, через 8 — 9 днів після операції добув із 92 вдалих пересадок виразу диференціацію міокарда з розвитком міофібрил тільки в 4 вип.: один — від правої омфало-мезентеріальної частини із зародка з 14 сомітами, один — із задньої медіальної частини з 17 сомітами і два — з такої ж частини зародка із 19 сомітами. У всіх випадках диференціація була в пульсуючому серці.

Отже ймовірним видається диференційований міокард у цілком ізольованому серці тільки в 4 вип. У всіх цих випадках взято задні ділянки серця. Ціла закладка такої диференціації не давала.

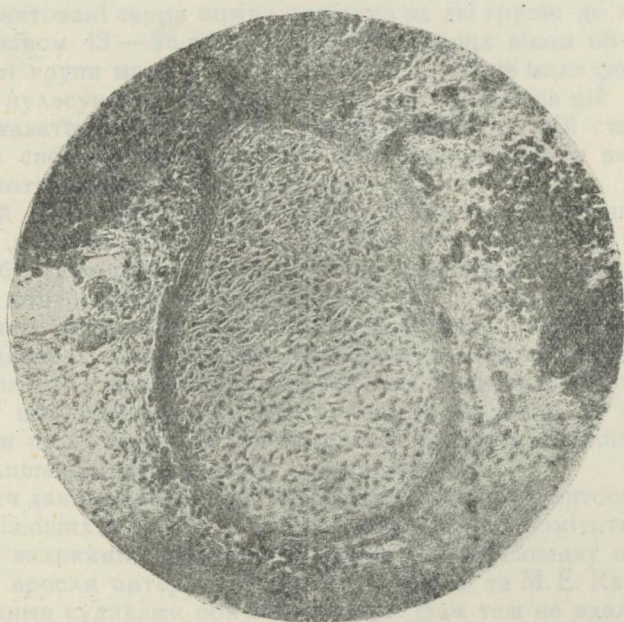
У наших експериментах ми ставили завданням з'ясувати зв'язок між ступенем диференціації в момент операції і її дальшим ходом. На жаль, ми не можемо точно визначити, чи були міофібрили в серцях, взятих на ранніх стадіях розвитку. Справа в тому, що ми не можемо точно визначити момент з'явлення їх. Як показали О. М. Olivo, М. R. Lewis та інш., пульсація не свідчить за наявність поперечнопосмугованих фібрил, які фарбуються відповідними фарбами, бо вона починається ще до того періоду, коли їх удається виявити. Цей момент різні автори визначають по-різному.

Приміром, для курчати Bruno (1918 р.) виявив міофібрили у зародків із 10 сомітами, Heidenhein (1899 р.) виявив їх у гусака на третій день, Schalter (1907 р.) констатував маленькі пучки міофібрил у 2¹/₂-денного зародка курчати, Duesberg (1910 р.) не виявив їх у зародків із 10 — 12 сомітами. Ferguson та Jordan (1916 р.) не виявили поперечної посмугованості в міокарді 48-годинного зародка. Нарешті, за спостереженнями



Мал. 1. Велика судина, яка вросла в chorio-allantois'a у трансплантоване серце.

Fig. 1. Vaisseau du chorio-allantoïs ancriné dans le coeur transplanté.



Мал. 2. Хрящ, що розвинувся з мезенхіми в трансплантованому серці, взятому на ранніх стадіях розвитку.

Fig. 2. Cartilage développé du mesenchyme dans le coeur transplanté dans les premiers stades de développement.

M. R. Lewis (1919 p.), у одних зародків поперечна посмугованість міокарда з'являється то на 28—30 годині інкубації (10—15 сомітів), то між другим і четвертим днем.

Переходимо до наших дослідів. Ми взяли серця віком від 43 до 96 годин інкубації. Всього зроблено 200 операцій, із них серце розвивалося в 12 вип. ось як: у 3 вип.—43 год., у 2 вип.—48 год., в 1 вип.—56 год., в 4 вип.—68 год., в 1 вип.—82 год. і в 1 вип.—96 год.

Операції робили ось як. Щоб ізольовати серце, увесь зародок клали в чашку Петрі із розчином Ringer'a t° 38°. Тонкими гострими скальпелями відділяли серце від сусідніх тканин. Ізольовані серця пульсували й далі. У шкаралупі другого яйця пропилювали маленьке віконце, зрізали білкову оболонку. Ізольоване серце клали на поверхню chorio-allantois 7—8-денного зародка (приблизно момент зростання allantois із серозною оболонкою), стараючись примістити його якомога ближче до великих судин або над місцем перехрещення їх. По закінченні операції отвір у шкаралупі покривали стерильною пластинкою слюди, яку закріплювали по краях розтопленим парафіном. Розвиток у chorio-allantois тривав від 4 до 7 днів; за нашими спостереженнями, серця розвивалися тим краще, чим ближче лежали вони до великих судин. Чотири із розвинених сердець досягли більших розмірів, ніж нормальне серце такого ж віку.

Цим результати наших операцій відрізняються від усіх попередніх, де розміри імплантованого серця ніколи не досягали розміру нормального серця зародка такого самого віку. Мабуть, це пов'язано із сприятливішими умовами кровопостачання, які були в наших операціях. Зростання забезпечувалось речовинами, які приставляли кров хазяїна. Судини хазяїна проростали в тканину імплантата, який рідко коли лишався на поверхні chorio-allantois, а найчастіше проростав під нього.

Імплантовані серця мали порожнини, які, очевидно, розвинулися із порожнини трубкоподібного серця молодого зародка (43—56 год.). Але чи відповідають вони порожнинам нормального серця,—ми сказати не можемо.

Трансплантовані серця можна поділити на дві групи: до першої належать серця віком 43—56 год., до другої—серця віком 68—96 год. Зародки першої групи мали 18—24 сомітів, і їх серце мало форму вигнутої трубки, яка пульсувала. Чи були у сердець, взятих на цій стадії, міофібрили, ми сказати не можемо, бо у контрольних на цій стадії розвитку їх інколи не спостерігали, а інколи вони виявлялись у вигляді рідких пучків. Це потверджують дані Lewis.

У другій групі сердець (68—96 год. інкубації) можна було помітити окремі ділянки сформованого серця, тобто передсердя та шлуночки. Міокард їх був краще розвинений, пучки міофібрил були завжди яскраво виявлені на контрольних зрізах. Через 4—7 днів після операції серця, взяті на ранніх стадіях, не пульсували, вони мали порожнини, наповнені прозорою рідиною, яка не містила формених елементів крові. У 6 сердець, взятих на пізніших стадіях, порожнини теж були, але заповнені кров'ю, а чотири з них пульсували. Ця пульсація тривала в одного з них 2—3 години після того, як його вийняли із chorio-allantois навіть тоді, коли воно лишалося без рідкого середовища.

Всупереч даним Дончакової та Гагаріна, у всіх імплантованих сердець, взятих на пізніших стадіях розвитку, можна було помітити анастомози порожнин із великими судинами. Тільки в одному випадку вони виявили, що в серце вросли артерія і вена. В. Н. Willier та М. Е. Rawles не встановили, з якими судинами пов'язане серце. Нам теж не вдалося виявити, що являють собою врослі судини—артерії чи вени.

Тут треба пам'ятати, що у випадках наповнення сердець кров'ю через судини chorio-allantois про наближення до умов нормального

функціонування не могло бути й мови. І в цих випадках через серце проходила лише мізерна частина крові. Його механічна робота була далеко менша, ніж при нормальних умовах.

Щоб виявити, які гістологічні зміни сталися в трансплантованих серцях, вони фіксувалися субліматом та ацетатною кислотою і далі оброблялися. Заливали їх у парафін. Зрізи завтовшки в 10—15 мікрон забарвлювалися за Горновським та залізним гематоксиліном за Гейденгайном. Гістологічні дослідження показали різницю між серцями, в яких пульсація припинялась, і тими, в яких пульсація зберігалась до кінця досліду. В тих серцях, що не пульсували (туди належали всі серця першої групи), міофібрил виявити не вдалося.

Порівнюючи препарати цих сердець, забарвлених за Горновським та Гейденгайном, з контрольними, забарвленими такими ж способами, можна простежити чималі відмінні між ними, які полягають у тому, що в трансплантованих серцях немає м'язової тканини. Про це свідчить забарвлення за Горновським і відсутність поперечнопосмугованих міофібрил при забарвленні за Гейденгайном. Маса трансплантата складається із пухкої мезенхіматозної тканини, що містить зірчасті клітини, як це описали ще Murray й Nixley. Проте, всупереч попереднім авторам, крім мезенхіматозної тканини, в трансплантованому серці, взятому на ранніх стадіях, виявлено круглий утвір, що має будову гіалінового хряща. Порівнюючи цей утвір із хрящами трахей нормального зародка пізніших стадій (12—14 днів), можна відзначити більшу їх схожість. Цікаво, що Beninghoff (1930 р.) дослідив волокнисті хрящі в дорослої людини в *trigonum fibrosum*, а Stolfel (1926 р.) виявив у дорослого птаха гіаліновий хрящ коло основи корня аорти.

Серця другої групи, що пульсували до кінця досліду, являли іншу гістологічну картину. Мезенхіматозна тканина тут була рясніша, ніж у контрольних. Проте, вона ніколи не давала тут хрящових елементів, і кількісно посідає менше місце, ніж у серцях першої групи. Але ж тут є ділянки синцитіального характеру, які містять поперечнопосмуговані міофібрили, що забарвлюються за Гейденгайном; ці міофібрили не утворюють таких густих пучків, які спостерігаються в контрольних серцях того ж самого віку. У багатьох місцях їх витиснули густі скупчення клітин, що мають характер лимфоцитів. Тут м'язова тканина хоч і збереглася, але ж вона не прогресувала далі, а, навпаки, дала картину дегенерації.

Отже наші досліди дають нам підставу дійти висновку, що серце зародка може розвиватися тільки в умовах його нормального функціонування. В цьому і полягає присуття різниця від розвитку інших органів, які в зародка не функціонують (приміром, кінцівки, око). Ці органи, пересажені в *chorio-allantois*, розвиваються і далі, і диференціюються в детермінованому напрямі, хоч і давали певною мірою спотворні утвори.

Після виключення функції ембріонального серця змінюються і взаємодіювання його м'язової та мезенхіматозної частин.

У нормальному серці мускулатура розвивається прогресивно і кількісно і якісно, чималою мірою витискуючи мезенхіматозні елементи. По виключенні функції до з'явлення міофібрил у закладці міокарда або на ранніх стадіях їхнього розвитку вони зовсім не розвиваються. Закладка міокарда витискується мезенхіматозними утворами. В окремих випадках вони являють картину різкого прискорення розвитку, яке призводить до утворення хряща. Якщо трансплантація сталася після з'явлення міофібрил, то по виключенні функції м'язова тканина краще зберігається. Але і тут вона поступово витискується мезенхіматозною. Проте, розвиток мезенхіматозної тканини не йде так швидко, як у першому випадку.

Література.

- W. Dantschakoff und A. Gagarin.— Embryoherz in der Chorio-Allantois des Hühnchens. Zeitschr. f. Anatomie und Entwicklungsgeschichte, 1929. Bd. 89. H. 56.
- G. Ekman.— Neue experimentelle Beiträge zur frühesten Entwicklung des Amphibienherzes. Societas Scientiarum Fennica Commentationes Biologicae 1. 9. 1924.
- L. Gräper.— Untersuchungen über die Herzbildung der Vögel. W. Roux' Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 24. H. 3. 1908.
- Goerttler.— Die Bedeutung der ventrolateralen Mesodermbezirke für die Herzanlage der Amphibiekeime. Verhandlung der Anatomischen Gesellschaft. Ergänzungsheft zur 66. Band (1928) der Anatomischen Anzeiger.
- M. Küme.— The differentiating capacity of various regions of the heart rudiment of the chick as studied in chorio-allantoic grafts. Physiological Zoology, 1935. VIII. No. 1.
- O. Hertwig.— Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungslehre der Wirbeltiere. Dritter Band. Zweiter Teil. 1906.
- J. S. Huxley and G. R. De Beer.— The elements of experimental embryology. Cambridge. 1934.
- M. R. Lewis.— The development of cross-striations on the heart muscle of the chick embryo. The Johns Hopkins Hospital Bulletin. 1919. No. 340.
- W. Möllendorff.— Handbuch der mikroskopisch Anatomie des Menschen. Bd. VI. H. 1. 1930. A. Benninghoff. Blutgefäße und Herz.
- P. D. F. Murray and J. S. Huxley.— The development of grafted embryonic fragments of the chick. The British Journal of Experimental Biology. 1925. V. III.
- O. M. Olivo.— Über die frühzeitige Determinierung der Herzanlage beim Hühnenembryo und histologische und physiologische Differenzierung in vitro. Verhandlungen der Anatomischen Gesellschaft. 37. Vers. 1928.
- M. Patten.— The early Embryology of the chick. Philadelphia. 1929.
- G. Schalter.— Histologische Untersuchungen über die Muskelgewebe. II. Die Myofibrille des embryonalen Hühnenherzens. Archiv f. mikroskop. Anatomie. Bd. 69. 1907.
- P. H. Stöhr.— Experimentelle Studien an embryonalen Amphibienherzen. 1. Über Explantation embryonen. Amphibienherzen. Archiv f. mikroskop. Anat. und Entwicklungsmechanik. Bd. 102. 1924.
- B. H. Willier and Mary E. Rawles.— Developmental relations of the heart and liver in chorio-allantoic grafts of whole chick blastodermis. Anatomical record. 1931. V. 48. No. 2.

Розвиток серця зародка цыпленка, трансплантованого в chorio-allantois.

Е. М. Шапиро.

Лаборатория механики развития (зав.—проф. Е. А. Финкельштейн) Украинского института экспериментальной медицины (директор—проф. Я. И. Лифшиц).

В chorio-allantois 7—8-дневного зародка цыпленка имплантировались сердца зародышей цыпленка в возрасте 43—96 часов. Сердца в возрасте 43—56 часов (6 удачных операций) не содержали в миокарде миофибрилл или они только начинали у них развиваться. Их пульсация вскоре прекращалась. Через 4—7 дней после операции эти сердца равнялись по размерам контрольным или превосходили их. Полости в них были хорошо развиты и наполнены прозрачной жидкостью. Гомологизировать их с полостями нормального сердца нельзя. Миокард был совершенно вытеснен мезенхимой. Последняя в отдельных местах развивалась прогрессивно и образовала хрящ.

Сердца в возрасте 68—96 часов (6 удачных операций) содержали в миокарде более или менее развитые миофибриллы. Эти сердца в большинстве случаев продолжали пульсировать после операции. Полости

у них тоже были развиты, но их также нельзя гомологизировать с полостями нормального сердца, хотя они были иногда наполнены кровью, поступавшей через вросшие в них сосуды chorio-allantois хозяина. Через 4—7 дней миофибриллы в них сохранялись, однако их развитие резко отставало от контрольных и давало картины дегенерации. В то же время мезенхима не развивалась так прогрессивно, как у более молодых сердец.

Общий вывод.

Близкое к нормальному развитие тканей сердца возможно только при его нормальном функционировании у зародыша. Выключение нормальной функции путем трансплантации в chorio-allantois ведет прежде всего к вытеснению мышечной ткани мезенхимой. Это вытеснение — тем больше, чем моложе возраст пересаженного сердца.

Développement du coeur du foetus de poussin transplanté dans le chorio-allantois.

E. M. Schapiro.

Laboratoire de la mécanique de développement (chef — prof. E. A. Finkelstein) de l'Institut de médecine expérimentale d'Ukraine (directeur — prof. J. I. Lifschitz).

Des coeurs des foetus de poussins, âgés de 43 à 96 heures, étaient implantés dans le chorio-allantois d'un foetus de poussin âgé de 7—8 jours. Les coeurs âgés de 43—56 heures (6 opérations réussies) ne contenaient pas de myofibrilles dans le myocarde, ou bien celles-ci commençaient seulement à s'y développer. La pulsation cessait bientôt. 4—7 jours après l'opération ces coeurs avaient les mêmes dimensions que les coeurs de contrôle, les dépassaient même quelquefois. Les cavités y étaient bien développées et remplies d'un liquide transparent. On ne peut, cependant, les homologuer avec les cavités des coeurs normaux. Le myocarde y était complètement remplacé par le mésenchyme. Ce dernier se développait progressivement par endroits et formait le cartilage.

Les coeurs âgés de 68—96 heures (6 opérations réussies) contenaient dans le myocarde des myofibrilles plus ou moins développées. Dans la plupart des cas ces coeurs continuaient de se contracter après l'opération. Leurs cavités étaient de même développées, mais on ne peut pas non plus les homologuer avec les cavités du coeur normal, bien qu'elles fussent parfois remplies de sang, amené par les vaisseaux du chorio-allantois de l'hôte qui s'y étaient enracinés. 4—7 jours après l'opération les myofibrilles y étaient conservées, leur développement, cependant, était très en retard comparativement à celui du contrôle, et présentait des signes de dégénérescence. En même temps le mésenchyme ne s'y développait pas aussi progressivement que dans les coeurs plus jeunes.

Conclusion générale.

Le développement des tissus du coeur approchant celui à l'état normal, n'est possible qu'à condition de fonctionnement normal chez le foetus. La suppression du fonctionnement normal par la transplantation dans le chorio-allantois mène avant tout à un refoulement du tissu musculaire par le mésenchyme, ce refoulement étant d'autant plus énergique que le coeur transplanté est plus jeune.

~~12 4489~~
1748783

Экспериментальная Медицина

Шошесялний журнал



№ 4

Квітень
Avril

1936

La médecine
expérimentale

Держмедгизав