

DARIUSZ ADAM SZKUTNIK

## Metodologiczne podstawy „organizatora” w zakresie zjawisk embriologicznych według Hansa Spemanna

### Methodological Foundation of the “organizer” on the Field of Embryological Phenomena according to Hans Spemann

ADRES KORESPONDENCYJNY:

Dariusz Adam Szkutnik

Konstantynów 1c/309, 20-708 Lublin

theskutnik@gmail.com

#### Summary

The article presents methodological research and theories of Hans Spemann which allowed to coin the concept of ‘organizer’ of developmental processes. The concept of ‘organizer’ acquires a fundamental cognitive sense not only in relation to the processes of embryogenesis but also relates to the research conducted in the fields of organic regeneration, and tissue or organ transplants in living organisms. The presentation of Spemann’s experimental research and his philosophical generalizations in relation to the aforementioned issue focuses not only on the descriptive aspects of historical heuristic but also shows how complex is the problem which has not yet been resolved.

Key words:

Hans Spemann, Hilde Mangold, organizer, embryogenesis, organogenesis, totipotency, experiment.

#### Streszczenie

Artykuł ukazuje metodologiczną ścieżkę badań i rozważań Hansa Spemanna, prowadzącą do ukucia tzw. koncepcji „organizatora” procesów rozwojowych. W świetle opisanych zjawisk biologicznych koncepcja „organizatora” nabiera fundamentalnego wymiaru poznawczego w odniesieniu do procesów embriogenezy, organogenezy oraz regeneracji organicznej. Ukazanie badań eksperymentalnych Spemanna oraz jego uogólnień filozoficznych w tym zakresie, stanowią swoistą wartość opisową, odnoszącą się do uwypuklenia historycznej heurystyki badawczej. Takie podejście metodologiczne wskazuje także na złożoność problemu dotyczącego integracji procesów rozwojowych, który współcześnie nie jest ostatecznie rozwiązany.

Słowa kluczowe:

Hans Spemann, Hilde Mangold, organizator, embriogeneza, organogeneza, totipotencjalność, eksperyment.

#### Wprowadzenie

Hans Spemann urodzony 27 czerwca 1869 w Stuttgarcie, zmarł 9 września 1941 we Fryburgu Bryzgowijskim. Niemiecki embriolog i zoolog. W 1935 roku otrzymał Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny za odkrycie funkcji centrów organizujących wczesny rozwój embrionalny zwierząt.

Okolo 1900 roku w embriologii eksperymentalnej powstała nowa koncepcja, której nadano nazwę „indukcji”. Termin ten odnosił się do wszystkich przypadków, w których jedna tkanka wpływała na późniejszy rozwój innych tkanek.

W latach dwudziestych i trzydziestych XX w., początkowo Ethel Browne Harvey, a następnie Hans Spe-

mann wraz ze swoimi współpracownikami (małżeństwem Hilde i Ottonem Mangold) oraz Johannesem Holftreterem, stosując metody mikrochirurgiczne, odkryli zjawisko indukcji embrionalnej, które polegało na tym, że nieznaney natury czynniki, tzw. organizatory, wpływały sterująco na rozwój sąsiednich komórek zarodka.

Od tamtej pory stało się całkowicie jasne, że interakcje komórek i tkanek odgrywają znamienne rolę w rozwoju niemal wszystkich organizmów zwierzęcych – być może z wyjątkiem tych bardzo nielicznych, które charakteryzują się rozwojem ściśle zdeterminowanym<sup>1</sup>. Odkrycie przez Spemanna tzw. „organizatora” tkanek i narządów oraz jego zdolności do indukowania i kształtowania przewodu nerwowego embriona zarodków płazów, zainspirowało embriologów do podejmowania prób dotyczących wyjaśniania mechanizmów leżących u podstaw indukcji embrionalnej na obszarze regeneracji i reperacji uszkodzonych struktur organizmu<sup>2</sup>. Od tego czasu podejmowane były różne próby, zmierzające do wyjaśnienia i opisanie znamiennej roli specyficznych cząsteczek sygnałowych w ramach wzajemnych współdziałań regulacyjnych tkanek w toku przebiegu wydarzeń organicznych.

Wieloaspektowa metodologia badań naukowych skupiała się nie tylko na tkankach płazów w embrionalnym stadium rozwoju, ale także dotyczyła dojrzałych organów wraz z różnymi metodami ich ekstrakcji. Naukowcy zmierzali do jednoznacznego zidentyfikowania czynników chemicznych mogących brać wiodącą rolę w rozwoju żywego ustroju.

### O embriologicznych eksperymentach Hansa Spemanna i Hilde Mangold

Hans Spemann był naukowcem obdarzonym niezwykłą wyobraźnią badawczą oraz był także wysoce wykwalifikowany (technicznie) pod względem eksperymentalnym. W latach 1901-1903 pracując na jajach traszki *Triturus* Spemann oddzielił powstałe w wyniku pierwszego podziału dwie komórki, zaciskając pę-

tlę wykonaną z włosów swojej córki Magritte<sup>3</sup>. Pętla została wykonana w poprzek jaja, zanim jajo zdążyło się podzielić. Pomiędzy dwoma połówkami pozostał jedynie wąski mostek protoplazmy. Część zawierająca jądro komórkowe zaczęła ulegać podziałowi na 2, 4, 8 i 16 komórek. Druga część pozostawała niepodzielona, dopóki jedna z sąsiednich komórek nie znalazła się blisko przewężenia. Kiedy jądro prześlizgnęło się na drugą stronę mostka, druga część jaja także zaczęła ulegać podziałowi a w wyniku dalszego rozwoju powstały dwa kompletnie uorganizowane organizmy<sup>4</sup>.

Otrzymane przez niego wyniki eksperymentalne wskazywały na fakt, że wtedy, kiedy węzeł, w miejscu manipulacji eksperymentalnej, był całkowicie zaciśnięty na jakiś czas, to powodował głębokie „ograniczenie” rozwojowe pomiędzy dwoma komórkami. W niektórych przypadkach Spemannowi udawało się otrzymać dwa kompletne embriony, kiedy węzeł nie był wystarczająco mocno zaciśnięty<sup>5</sup>.

W wyniku opisanego eksperymentu Spemann zrozumiał że wynik badawczy, który otrzymał zależy od linii, wzdłuż których zostało dokonane oddzielenie rozwojowe, a płaszczyzna, według której dochodziło do rozczepienia embriionów, jest wartością zmienną. W niektórych przypadkach separacja przebiegała oddzielając potencjalne strony embrionalne, tj. stronę grzbietową i brzuszna, a w jeszcze innych okolicznościach pozycyjnie znajdowała się w stosunku do nich pod kątem prostym albo przebiegała w jeszcze innych relacjach przestrzennych.

Ponadto Spemann dostrzegał, że pierwsze odseparowanie zarodków, którego dokonał oddzielając grzbietową ich stronę od strony brzusznej przyczynia się do rozwoju grzbietowej strony, która w efekcie dalszego rozwoju prowadziła do kompletnej organizacji embrionalnej w toku regeneracji organicznej. Brzuszna część embriona powodowała tylko rozwój określonych struktur brzucha.

<sup>3</sup> Córka Spemanna była wtedy jeszcze niemowlęciem, co świadczy o delikatności materiału eksperymentalnego.

<sup>4</sup> H. Spemann, *Entwicklungsphysiologische Studien am Tritone I*, Wilhelm Roux Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen 1901, t. XII, s. 224-264.

<sup>5</sup> H. Spemann, *Über Korrelationen in der Entwicklung des Auges*, Verhandlungen der Anatomischen Gesellschaft 1901, t. XV, s. 61-79; tenże: *Entwicklungsphysiologische Studien am Tritone II*, Wilhelm Roux Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen 1902, t. XV, s. 448-543; tenże: *Entwicklungsphysiologische Studien am Tritone III*, Wilhelm Roux Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen 1903, t. XVI, s. 551-631.

<sup>1</sup> E. Mayr, *To jest biologia*, Warszawa 2002, s. 130-131.

<sup>2</sup> Pojęcie „indukcji” embrionalnej nie zostało wprowadzone do biologii rozwoju przez Hansa Spemanna. Po raz pierwszy tego słowa użył Wilhelm Pfeffer w 1871 roku, które później zostało doprecyzowane, głównie przez Curta Herbstę. W roku 1828 Karl Ernst von Baer zasugerował, że pęcherzyk oczny potrafi indukować kształtowanie się soczewki oka w przyległej ektodermie. Spemann, wcześniej, bo w roku 1903, przypuszczał, że płytka nerwowa może być indukowana przez prajelito (archenteron).

Wskazane obserwacje eksperymentalne Spemanna doprowadziły badacza do ukucia tzw. materialistycznej koncepcji „organizatora”<sup>6</sup>.

Sam fakt, że odizolowana, grzbietowa część embriona rozwijała się niezależnie do postaci kompletnego zarodka a brzuszna połowa zachowywała się rozwojowo w zupełnie inny sposób, sprowokowała jego umysł do stwierdzenia, że oba badane obszary embrionalne posiadają w sobie rozmaite zdolności o różnych zasobach potencjalności rozwojowej.

W kontekście powyższych ujęć, dalsze badania metodologiczne Hansa Spemanna i Hilde Mangold skupiały się na poszukiwaniu dynamicznej podstawy samego „organizatora”.

Problematyka poruszanej kwestii była na tyle złożona i niejednoznaczna, że początkowo Spemann skłaniał się ku wyjaśnieniom witalistycznym<sup>7</sup> przy opisie osobliwości owych procesów, pomijając fizyko-chemiczne zdolności rozwojowe samego organizmu.

W latach 1914-1919 Spemann rozszerzając swoje badania embriologiczne, tj. wybierając do celu badań eksperymentalnych embriony znajdujące się w późniejszej fazie rozwojowej<sup>8</sup> otrzymał podobne wyniki.

Grzbietowa część embriona, która zawierała wargę grzbietowej prągeby, kształtowała bardziej kompletne embrionalne osie zarodkowe jak w przypadku innych części strukturalnych zarodka. Przyczyniała się ona także do kompleksowego wzrostu, przestrzennie zorganizowanej struktury embrionalnej tj. struny grzbietowej, somitów, tkanki nerwowej, czasami części głowy. Przy tym należy podkreślić, że brzuszne elementy embrionalne często wpływały tylko na rozwój skóry, nie zróżnicowanej mezenchymy, kanalików nerkowych i krwi, jednak żaden z owych elementów nie stanowił jakiegokolwiek podstawowej części składowej należącej do embrionalnej osi zarodkowej.

Prowadzone przez Spemanna obserwacje eksperymentalne doprowadziły go do ważnych uogólnień teoretycznych, m.in. do scharakteryzowania wargi grzbietowej prągeby jako „centrum różnicowania”<sup>9</sup> oraz do zdefiniowania pojęcia tzw. „centrum organizacyjnego”,

<sup>6</sup> Powyższe badania eksperymentalne zainspirowały go do przygotowania eksperymentu biologicznego, który jest najlepiej znany.

<sup>7</sup> W pełni witalistycznie zinterpretował zjawiska embriogenezy filozof i embriolog Hans Driesch.

<sup>8</sup> Badane przez Spemanna embriony posiadały wykształcony otwór jelita embrionalnego.

<sup>9</sup> H. Spemann, *Über die Determination der ersten Organanlagen des Amphibienembryo*, Wilhelm Roux Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen 1918, t. XLIII, s. 448-555.

które miało osobliwy wpływ na komórkowe relacje przyczynowo skutkowe; szczególnie odnosiło się do różnicowania i organizacji komórek położonych w zupełnie innym obszarze embrionalnym<sup>10</sup>.

Dalsza strategia badawcza Spemanna, oparta na metodach transplantacyjnych, polegała na zweryfikowaniu, w jakim zakresie wargę grzbietowej prągeby może zmieniać przeznaczenie rozwojowe innych komórek<sup>11</sup>.

W tym kontekście Spemann powtórzył eksperyment Warrena Harmona Lewisa, wprowadzając kategoriale rozróżnienie metodologiczne pomiędzy przeszczepianym materiałem embriologicznym a komórkami rozwijającymi się w organizmie gospodarza. Uczony do swojego eksperymentu wybrał trzy różne ubarwione organizmy Trytona, tj. *Triturus cristatus*, *Triturustaeniatas*, *Triturus alpestris*.

W 1917 roku Spemann rozpoczynając swoje badania eksperymentalne z wyżej wskazanymi organizmami zwierzęcymi, przeszczepiał, zamiennie, ich rozmaite struktury embrionalne do różnych obszarów zarodkowych<sup>12</sup>.

Jego wstępne wyniki eksperymentalne opublikowane zostały w 1921 roku. Dotyczyły koncepcji tzw. „organizatora” ujmowanego w ramach poszczególnych przeszczepów wargi grzbietowej prągeby. Wyniki owe bazowały także na pojedynczej próbie eksperymentalnej, która została przeprowadzona przez Hilde Mangold<sup>13</sup>. Spemann jednak, ponownie zlecił powtórzenie jej krytycznego eksperymentu, przeprowadzonego na

<sup>10</sup> Takie wzajemne współdziałanie w embriologii nazywane jest indukcją embrionalną.

<sup>11</sup> Inni badacze, jeszcze wcześniej od Spemanna, pracowali nad procesami regulacyjnymi w obrębie zarodka. W 1907 roku Warren Harmon Lewis przeszczepił wargę grzbietową prągeby, z embriona w stadium gastruli do brzusznej strony organizacji gospodarza, znajdującej się w podobnej fazie rozwojowej. Po przeprowadzonym eksperymencie Lewis donosił, że w toku przeprowadzonych badań zaobserwował kształtowanie się podwójnych osi zarodkowych. Lewis interpretując to zjawisko biologiczne donosił o samo różnicowaniu się przeszczepionego materiału embrionalnego, czyli uważał, że przeszczepione komórki same kształtują całość drugiej osi zarodkowej. Analizowanie procesów indukcyjnych i wykazywanie dowodów przeciw teorii preformacji było kolejną ścieżką badawczą, ukazującą że komórki wargi grzbietowej prągeby mogą wysyłać sygnały zdolne do informowania innych komórek, zmieniając w ten sposób ich przebieg i kierunek różnicowania, przyczyniając w ten sposób do rozwoju innych struktur organizmальных.

<sup>12</sup> Wskazane organizmy zwierzęce charakteryzowały się ubarwieniem jasnym i ciemnym.

<sup>13</sup> H. Spemann, *Die Erzeugung tierischer Chimären durch heteroplastische embryonale Transplantation zwischen Triton*

embrionach, które zostały tylko w niewielkim stopniu poddane manipulacji eksperymentalnej (embriony utrzymywały się przy życiu). W końcowym efekcie eksperymentu Spemanna, z kilkuset chimerycznych zarodków tylko pięć przeżyło. Ostateczne, wyniki eksperymentalne Spemanna zostały opublikowane a w 1924 roku<sup>14</sup>.

Sumarycznie odnosząc się do powyższych kwestii, można wskazać, że metodologia badawcza opisanych eksperymentów była bardzo prosta. Polegała ona na przeszczepianiu wargi grzbietowej prągleby, pobieranej z jednego rodzaju organizmu i wszczepieniu jej w różne obszary embrionalne innego organizmu. Eksperymenty dotyczące ekstrakcji wargi grzbietowej prągleby z ustroju *Triturus cristatus* i wszczepianiu jej do ciemniejszej odmiany *Triturus alpestris*, wykazywały na małą przeżywalność organizmów (z 83 organizmów przeżył tylko 1). Większość zarodków obumierała we wczesnych stadiach rozwojowych, a ten który przeżył rozwijał się w toku dalszych etapów embrionalnych.

Badania eksperymentalne Spemanna oraz wypracowane na ich podstawie swoiste implikacje teoretyczne, sprowokowały jego umysł do wyraźnego rozróżnienia histologicznego pomiędzy strukturalnym materiałem embrionalnym „dawcy” i „biorcy”.

We wszystkich przypadkach badanych organizmów przeszczep przyczyniał się głównie do rozwoju osiowych narządów mezodermalnych embriona (w tym struny grzbietowej i części somitów). W niewielkim stopniu powodował rozwój cewki nerwowej. W większości cała masa tkanki nerwowej pochodziła od organizmu macierzystego.

Eksperymenty Spemanna wykazały także, że warga grzbietowej prągleby posiada silne zdolności organizujące, i może wywierać wyraźny wpływ na sąsiednie komórki gospodarza. Procesy owe mogą zachodzić poprzez ich indukcję ze strony nienerwowej potencji prospektywnej (naskórek) i mogą prowadzić do potencjalnego stanu nerwowego.

Eksperymentalny wymiar badań naukowych Spemanna potwierdził także, że „organizator” może oddziaływać rozwojowo na organizm gospodarza, szczególnie na jego struktury i narządy, jako pewna „pula” nerwowych sygnałów indukujących.

W świetle opisanych zjawisk biologicznych koncepcja „organizatora” nabiera fundamentalnego wymiaru

poznawczego w odniesieniu do procesów embriogenezy, która złożona jest z dwóch podstawowych procesów rozwojowych: biochemicznego kształtowania zarodka oraz morfogenetycznych ruchów mechanicznych, odpowiedzialnych za przestrzenno-geometryczny kształt embriona. Przebieg procesów związanych z organizacją embrionalną powiązany jest bezpośrednio z procesami alokacji i zjawiskami różnicowania się komórek w różnych obszarach zarodka. Zjawiska owe przebiegają w oparciu o polarność komórki jajowej oraz wzajemne oddziaływanie między sobą czynników pochodzących od owej polarności jaja.

Należy pamiętać także o tym, że organizacja „planu” rozwojowego w organizmie jest uzależniona od wielu innych wydarzeń epigenetycznych, występujących w toku jego dalszego rozwoju embrionalnego. Tylko w takim, pełnym ujęciu, koncepcja „organizatora” była dla – Spemanna – najważniejsza.

Eksperymenty – Spemanna – wykazały także, że zadaniem „organizatora” jest bezpośrednio bądź pośrednio inicjowanie różnych procesów rozwojowych związanych z różnicowaniem się komórek w innych obszarach określonego embriona (indukcja). Czasami jednak zjawiska owe pobudzane są w jego własnym obszarze, w pewnej puli procesów różnicujących, prowadzących do formowania się podstawowych części osiowego układu zarodka. Ostatecznie, wynikiem działania „organizatora” miało więc być pobudzenie określonego obszaru embriona tak, aby w konsekwencji mógł przejść z jednego rodzaju różnicowania do innego, bez zdobywania wcześniejszych zdolności formujących.

W takim ujęciu badawczym indukcja embrionalna staje się osobliwym procesem, złożonym ze specyficznych interakcji pomiędzy bodźcem oraz odpowiedzią na ten bodziec ze strony tkanki. W toku takich właśnie powiązań przyczynowo skutkowych dochodzi do zmian w ramach ścieżki rozwojowej organizmu. Przy tym należy zaznaczyć, że bodźce indukcyjne działały tylko w pewnych warunkach eksperymentalnych, głównie w fazach wczesnego rozwoju embrionalnego albo w czasie zachowania bliskiego kontaktu pomiędzy czynnikiem pobudzającym a reagującą tkanką.

Komórka, na którą zadziałał jednorazowo bodziec „wyzwalający” przechodziła na nowy kurs różnicowania, niezależnie od dalszej indukcji embrionalnej.

W tym ujęciu, rola wargi grzbietowej prągleby – jako swoistego „organizatora” – w programie rozwoju nowego embriona dotyczyła trzech ważnych aspektów:

1. Tworzenia struktur osiowych i kształtowania płaszczyny symetrii dwustronnej embriona.

*cristatus und taeniatus*, Wilhelm Roux Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen 1921, t. XLVIII, s. 533-570.

<sup>14</sup> H. Spemann, H. Mangold, *Über Induktion von embryonal Anlagen durch Implantation arfrämderorganistoren*, Archive für Entwicklungsmechanik der Organismen 1924, t. C, s. 599-638.

2. Ponownego ustalania przeznaczenia rozwojowego określonej ilości komórek oraz włączania do ich struktur przeszczepu-organizatora.

3. Indukcji systemu nerwowego.

Prowadzone badania embriologiczne przez Spemanna i Mangold dotyczyły zmiennego przeznaczenia rozwojowego komórek, które były przeszczepiane w rejony organizacyjne innego organizmu. Procesy owe prowadziły do wzrostu jego całościowej organizacji oraz do kształtowania się jego tkanek i narządów jako części składowych funkcjonalnego ustroju (tj. nerek, centralnego układu nerwowego etc.).

Wyniki badawcze Spemanna<sup>15</sup>, uzyskane w toku jego późniejszych eksperymentów, dowodziły także, że procesy które są wywoływane w organizmach żywych (przy pomocy „organizatora”) prowadzą często do formowania się organów wraz z ich charakterystycznym kształtem oraz swoistym położeniem w stosunku do innych organów.

Z kolei jego dalsze eksperymenty, w czasie których fragmenty jaj żabich zostały przeszczepione do jaj trytona (lub odwrotnie), doprowadziły go do kolejnego ważnego stwierdzenia, mianowicie, że: charakter i własności rozwojowe pobudzanego organu w największym stopniu zależą od jego wewnętrznej struktury fizyko-chemicznej<sup>16</sup>. Takie późniejsze podejście badawcze Spemanna do swoistości procesów rozwojowych, mogłoby „świadczyc o mniejszej roli rozwojowej samego «organizatora» a większych zdolnościach regulacyjnych pobudzanego materiału embriologicznego”.

### **Analityczna interpretacja prac eksperymentalnych Hansa Spemanna i Hilde Mangold**

W ujęciu Spemanna i Mangold „organizator” miał więc zdolności oddziaływania na inne komórki w innym organizmie żywym, przez co potencjalnie mógł wpływać na sposób ich organizacji<sup>17</sup>. W ektodermie przeszczep doprowadzał do kształtowania i organizacji płyty nerwowej (cewki nerwowej) budowanej z komórek zawartych w organizmie gospodarza. W mezodermie natomiast obszar ukierunkowany rozwojowo odpowiadał wyłącznie za rozwój struktur brzusznych organizmu (mezenchyma, krew). W przypadku braku przeszczepu-organizatora proces był tylko ukierunkowany do kształtowania i rozwoju somitów.

<sup>15</sup> Badania dotyczyły indukcji embrionalnej w innych obszarach zarodka.

<sup>16</sup> Chodzi o strukturę genetyczną organizmu.

<sup>17</sup> Fakt ten dotyczył zarówno ektodermy jak i mezodermy w ustroju gospodarza.

Badania Spemanna i Mangold wykazały także, że przeszczepiony i zaangażowany rozwojowo „organizator”, posiada silne zdolności kształtujące (określonych struktur organizmalnych), których moc rozwojowa jest porównywalna z procesami niezaburzonymi rozwojowo w czasie normalnego rozwoju embrionalnego. Dlatego też, w stosunkowo wczesnym etapie rozwoju, „organizator” potencjalnie różnił się od innych obszarów embriona, aż do momentu jego pełnego zaangażowania rozwojowego w innym organizmie<sup>18</sup>.

Dla przykładu, Wilhelm Roux zinterpretował swoje eksperymenty w sposób następujący: embriony we wczesnej fazie swojego rozwoju są pewną formą „mozaiki” strukturalnej, komórki są nieodwracalnie zaprogramowane rozwojowo i nie mogą zmieniać swojego potencjalnego przeznaczenia. Rozumowanie Rouxa było błędne, co dobitnie wykazywały eksperymenty przeprowadzane przez witalistę Hansa Driescha<sup>19</sup>. Driesch i Spemann wskazywali na regulacyjny charakter omawianych procesów w aspekcie całościowym. Oznacza to, że rozwój zachodzący w organizmach żywych dotyczy min. aspektu pozycyjnego poszczególnych komórek, które znajdują się między sobą w relacjach zależnościowych.

Eksperymenty Spemanna i Mangold w pełni ukazują, na czym polega dynamiczny rozwój regulacyjny organizmów żywych. Ponadto jasno uwypuklają, że przeznaczenie rozwojowe komórek może zmieniać się w zależności od ich zmian pozycyjnych. Co ważne, ich eksperymenty dowodzą także, że rozwój biologiczny może być postrzegany jako seria „indukcyjnych wydarzeń”, przebiegających w określonym czasie i miejscu.

<sup>18</sup> Chodzi tutaj o zderzenie rozwojowe organizmu biorcy z organizmem dawcy.

<sup>19</sup> Driesch swoje eksperymenty przeprowadzał na jeźowcu morskim (Seeigel):

Eksperyment 1.

Driesch potrząsnął bardzo mocno zarodkiem w drugim stadium podziału komórki i w pewnych przypadkach udawało mu się zabić jeden z blastomerów, bez uszkodzenia drugiego, bądź też udawało mu się oddzielić dwa blastomery jeden od drugiego. Por. H. Driesch, *Philosophie des Organischen*, Leipzig 1921, s. 50.

Eksperyment 2.

Drieschowi udało się ostrożnie wcisnąć jaja Echinusa pomiędzy dwie płytki szkła, bez uśmiercania ich; zostały zniszczone do postaci stosunkowo cienkich krążków dużej średnicy. W jajach tych przebiegały wszelkie podziały jądra pod kątem prostym do kierunku nacisku, to znaczy w kierunku płytek. Podziały zaczęły jednak zachodzić prostopadle do wcześniejszego kierunku, gdy tylko nacisk ustał. Ibidem, s. 53.

Sama koncepcja „centrum organizującego” Spemann’a została oparta na obserwacjach, które doprowadziły go do stwierdzenia, że w każdym embrionie zachodzi informacyjna relacja sygnałowa<sup>20</sup>, przebiegająca od komórki do komórki. Zatem sam proces różnicowania, a raczej dostrzegalne jego skutki, nie jest uruchomiany równocześnie we wszystkich częściach embriona, ale rozpoczyna się w jednym miejscu, stopniowo podążając w określonym kierunku, ukazując dynamiczny rozwój ilościowy i jakościowy badanych struktur embrionalnych<sup>21</sup>.

### Podsumowanie

Wiele badań z zakresu biologii rozwoju wskazuje na fakt, że bodziec odpowiedzialny za regulacyjne procesy rozwojowe nie jest jeszcze w pełni poznany. W rzeczywistości ektoderma płazów zdolna jest do reakcji na skutek pobudzenia oraz zdolna jest także do utworzenia tkanki nerwowej przez zastosowanie poszczególnych induktorów zawierających:

1. Żywe organizatory pochodzące z innych embrionów.
2. Organizatory pobrane z całości określonego embriona bądź z jego części.
3. Pobrane tkanki organizacyjne, pochodzące z organizmu znajdującego się w stanie embrionalnym, bądź pochodzące od dorosłego organizmu z szerokiej gamy różnych zwierząt.
4. Organizatory jako niektóre związki chemiczne.

Warto podkreślić, że w normalnym (niezaburzonym eksperymentalnie) rozwoju, różny materiał biologiczny i rozmaite substancje chemiczne mogą indukować wiele procesów rozwojowych. Relacje przyczynowo skutkowe mogą także zachodzić w bliskim sąsiedztwie części strukturalnych organizmu. Podczas eksperymentów stymulację taką wykonuje się stosując różne substancje chemiczne.

<sup>20</sup> Relacje sygnałowe zachodzące między poszczególnymi komórkami, w oparciu o poszczególne aspekty informacji cybernetycznej szczegółowo analizuję w artykule: J. Bremer, K. Khrouski, R. Klimek, R. Tadeusiewicz, *Epigenetic phenomenology of entirety. General Comments and Observations on epigenetic Information*, w: *Challenging integralism, Aristotelian Entelecheia, Hyle and Morphe (form), and Contemporary concepts of information, touching upon the aetiological issues of carcinogenesis*, Biocosmology-neo-Aristotelism, Vol. 7, No. I, Winter 2017, s. 98-111.

<sup>21</sup> H. Spemann, H. Mangold, *Über Induktion von embryonalen Anlagen durch Implantation arfrämderorganismen*, Wilhelm Roux Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen 1924, t. 100, s. 599-638.

W czasie wielu dziesięcioleci badań, naukowcy próbowali jednoznacznie określić chemiczną rolę induktora w toku procesów biologicznych<sup>22</sup>.

Spemann, po przeprowadzonych badaniach eksperymentalnych oraz po wyciągniętych stosownych wnioskach badawczych<sup>23</sup> miał problem z dokładnym doprecyzowaniem czynnika odpowiedzialnego za procesy regeneracyjne, przebiegające w poszczególnych organizmach żywych<sup>24</sup>.

Z kolei Johannes Holtfreter, student Spemann’a, wykazał, że zdolność do wywoływania procesów nerwowych oraz kształtowania się struktur mezodermy jest obecna w całym królestwie zwierząt. Dowiódł także, że tkanka, która nie została poddana indukcji embrionalnej tj. ektoderma i endoderma gastruli, zniszczone, nabywają nowych zdolności do kształtowania płyty nerwowej z ektodermy<sup>25</sup>.

<sup>22</sup> Np. Joseph Needham rozpoczął swoje badania od znalezienia fizyko-chemicznej podstawy w zakresie indukcji samego zarodka, co w konsekwencji doprowadziło go do stwierdzenia, że komórki wargi grzbietowej (z ang. dorsal lip) posiadają indukcyjną substancję steroidową (w związanej formie), prawdopodobnie w złożonym kompleksie polisacharyd-białko-sterol. W trakcie gastrulacji charakterystyczny metabolizm organizatora rozbija złożony kompleks uwalniając sterol, który indukuje powstawanie ektodermy z przewodu nerwowego. Por. J. Needham, *Chemical Embryology*, vol. 3, Cambridge University Press 1931.

W innych laboratoriach uzyskano induktory rozwojowe za pomocą środków chemicznych bez steroili, były to: kwasy tłuszczowe, nukleoproteiny, kwasy nukleinowe, kwas adenylowy, ATP. Por. F.G. Fischer, E. Wehmeier, H. Lehmann, L. Jühling, K. Hultsch, *Zur Kenntnis der Induktionsmittel in der Embryonal-Entwicklung*, Bericht der Deutschen Chemischen Gesellschaft 1935, t. LXVIII, s. 1196-1199.

<sup>23</sup> Spemann sprecyzował m.in. dwie podstawowe właściwości komórek zarodkowych:

1. Przeznaczenie rozwojowe komórek nie jest z góry ustalone, ale ich los może być eksperymentalnie przekserowany z normalnego szlaku rozwojowego.

2. Komórki wewnątrz embrionalnego organizmu potrzebują zewnętrznych informacji w celu wyrażenia swoich możliwości rozwojowych. Nie było to jakieś stwierdzenie badawcze. Do podobnych wniosków doszedł już Hans Driesch w swoich badaniach prowadzonych z perspektywy witalistycznej.

<sup>24</sup> Por. H. Spemann, *Embryonic Development and Induction*, Yale University Press 1938.

<sup>25</sup> J. Holtfreter, *Über die Verbreitung Induzierender Substanzen und Ihre Leistungen im Triton-Keim*, Wilhelm Roux Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen 1934, t. CXXXII, s. 307-383.

W tym sensie można mówić, że proces denaturacji białek wyzwala jakiegoś swoistego agenta indukcyjnego z biernego kompleksu chemicznego.

Dodatkowo Holtfreter mechanicznie prowokował efekt indukcyjny. Uszkadzał odpowiednio wyselekcjonowane tkanki igłami otrzymanymi z rozbitego szkła albo je podgrzewał lub gotował w różnych odstępach czasowych. Obserwował, że przedłużone gotowanie tkanek, podgrzewanie ich w temperaturze 135°C zmniejsza aktywność induktora. Z kolei podgrzewanie materiału biologicznego temperaturą 175°C całkowicie niwelowało jego działanie. W wyniku tych eksperymentów uczony stwierdził, że neutralizacja zdolności rozwojowych ektodermy może zostać uzyskana poprzez stosowanie różnych czynników, które w sposób naturalny mogą wpływać na zwiększenie przepuszczalności błony komórkowej. W tym sensie, poszczególne czynniki fizyko-chemiczne, przy spełnieniu określonych warunków rozwojowych, mogłyby także być odpowiedzialne za procesy cytolizy<sup>26</sup>.

W 1940 roku zostało także dowiedzione, że komórki ektodermalne mogą różnicować się do postaci tkanki nerwowej bez żadnych substancji pobudzających („organizatorów” etc.). Po prostu wystarczyło hodowanie eksplantów w suboptymalnej mieszaninie soli<sup>27</sup>.

Pod koniec 1933 roku zostało opublikowanych kilka ważnych informacji, z których wynikało, że substancja indukująca procesy rozwojowe występuje nie tylko w niektórych grupach komórek zarodkowych, ale także znajduje się w wielu organach dorosłych kręgowców i bezkręgowców<sup>28</sup>. Uważano np., że nerka myszy jest silnym induktorem dla mózgu oraz narządów zmysłów, nie implikuje jednak procesów związanych z budowaniem struktur mezodermalnych; wątroba natomiast odgrywała duży wpływ w toku formowania się mięśni i struny grzbietowej<sup>29</sup>.

Badania prowadzone w latach 40-60. XX w. doprowadziły naukowców do ukucia hipotezy podwójnego gradientu<sup>30</sup>. Hipoteza owa głosiła, że istnieją dwie podstawowe struktury indukujące tj. struktura nerwowa oraz struktura mezodermalna. W czasie prowadzonych badań zostało przyjęte założenie, że oba induktory mogą działać razem w różnym natężeniu i mogą tworzyć kompletny system nerwowy.

Z kolei w roku 1962 roku Conrad Hal Waddington, w zakresie reinterpretacji kategorii indukcji na obszarze biologii molekularnej, łączył indukcję embrionalną z indukcją enzymatyczną<sup>31</sup>. Indukowalne enzymy były nazywane enzymami adaptacyjnymi aż do początku roku 1950. Ich związek z rozwojem został zaproponowany przez Jacquesa Monoda w 1947 roku<sup>32</sup>.

Embriologia doświadczalna dążyła do ustalenia reakcji przestrzenno-czasowych dynamicznego regionu potencji rozwojowej. Termin potencja rozwojowa może być zdefiniowany jako zakres wielorakich możliwości, które mogą być wyrażone w określonej tkance, w różnych warunkach eksperymentalnych, także w warunkach *in vivo*.

Właściwości „organizatora” zostały lepiej poznane w momencie eksperymentu przeprowadzonego na żabie *Xenopus laevis*, które ujawniły pewną pulę danych molekularnych, leżących u podstaw neuronalnej indukcji u kręgowców<sup>33</sup>.

Podstawowym problemem, który należy wyjaśnić jest to, w jaki sposób komórka zostaje przystosowana w stosunku do funkcjonującego całego organizmu wielokomórkowego na płaszczyźnie molekularnej oraz w jaki sposób wyraża jego genetyczną informację w ściśle kontrolowanym czasie i miejscu? Aby do tego doszło komórka musi wysyłać i odbierać dwa podstawowe sygnały informacyjne:

<sup>26</sup> J. Holtfreter, *Neural Differentiation of Ectoderm through Exposure to Saline Solution*, Journal of Experimental Zoology, (95)1944, s. 307-43.

<sup>27</sup> L.G. Barth, *Neural Differentiation without Organizer*, Journal of Experimental Zoology, (87)1941, s. 371-83.

<sup>28</sup> Por. H.H. Chuang, *Induktionsleistungen von frischemund gekochten Organteilen (Niere, Leber) nach ihrer Verpflanzung in Explantate und Verschiedene Wirtsregionen von Tritonkeimen*, Wilhelm Roux Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen 1939, t. CXXXIX, s. 556-638; H.H. Chuang, *Weitere Versuche über die Veränderung der Induktionsleistungen von gekochten*, Wilhelm Roux Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen 1940, t. CXL, s. 25-38.

<sup>29</sup> H.H. Chuang, *Induktionsleistungen von frischemund gekochten Organteilen (Niere, Leber) nach ihrer Verpflanzung*

*in Explantate und Verschiedene Wirtsregionen von Tritonkeimen*, Wilhelm Roux Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen 1939, t. CXXXIX, s. 556-638.

<sup>30</sup> R. Mocek, *Die werdende Form. Eine Geschichte der Kausalen Morphologie*, Marburg an der Lahn 1998, s. 148.

<sup>31</sup> C.H. Waddington, *New Patterns in Genetics and Development*, Columbia University Press, New York 1960.

<sup>32</sup> J. Monod, *The Phenomenon of Enzymatic Adaptation and its Bearing on Problems of Genetics and Cellular Differentiation*, Growth Symposium 1947, t. XI, s. 223-289.

<sup>33</sup> Por. A. Hemmati-Brivanlou, D.A. Melton, *A Truncated Activin Receptor Inhibits Mesoderm Induction and Formation of Axial Structures in Xenopus Embryos*, Nature, (359) 1992, s. 14-609; tenże, *Inhibition of Activin Receptor Signaling Promotes Neutralization in Xenopus*, Cell, (77) 1994, s. 273-81.

1. Na poziomie narządów każda komórka wyczuwa swoją pozycję reagując stosownie w odniesieniu do całości organizmu.

2. Na poziomie tkanek i komórek, każda komórka musi wymieniać informacje z innymi pobocznymi komórkami (np. morfogeneza).

W toku prac eksperymentalno-badawczych nadal należy pracować, przede wszystkim nad ustaleniem granic możliwości rozwojowych, adaptacyjnych, regeneracyjnych w zakresie szerzej postulowanego przez Spemanna tzw. „organizatora” w różnorodnych warunkach środowiska. Należałoby też ustalić dokładny przebieg procesów kierowanych przez ów „organizator”. Im dokładniejszą byłaby taka analiza eksperymentalna cyklu życiowego, tym bardziej precyzyjnym byłoby określenie samego czynnika integrującego. Znajomość wachlarza możliwości i warunków wyzwających określone skutki w zakresie rozwoju organizmów pomogłoby w rozwiązaniu wielu praktycznych problemów, takich jak planowanie optymalnie skutecznych metod terapeutycznych i maksymalnie wydajnych procedur hodowlanych<sup>34</sup>.

---

<sup>34</sup>Zostało poznanych wiele substancji (o charakterze białek lub polipeptydów), które pobudzają wzrost i różnicowanie się w pożądanym kierunku komórek macierzystych lub pluripotencjalnych. Są to przede wszystkim białka inicjujące różnicowanie ektodermy płodowej takie jak np. noggin, chordin, follistatin, które inicjują neurogenezę poprzez blokowanie innych białek (należących do tzw. grupy „bone morphogenetic protein” – BMP), białko SHH (sonic hedgehog) wydzielane przez strunę grzbietową, którego gradient decyduje o różnicowaniu neuronów w cewie nerwowej.

Zostało odkrytych także wiele czynników wzrostu (z ang. growth factors) białka stymulujące wzrost różnych struktur tkankowych. Np. niektóre doniesienia wskazują, że czynniki wzrostu takie jak BDNF, IGF-1, FGF-2 mogą stymulować komórki progenitorowe. Poznane białka mogą pełnić znamienne rolę w „nakierowywaniu” wzrostu wypustek komórek nerwowych (np. tzw. semaforyny), w indukowaniu tworzenia złączy synaptycznych, w tym nerwowo-mięśniowych (np. efryny).

Funkcjonalna regeneracja w ośrodkowego układu nerwowego poprzez przeszczep komórek nerwowych progenitorowych lub neuralnych komórek pnia jest jednak czymś znacznie trudniejszym niż w przypadku innych narządów (np. przeszczepy komórek, które różnicowałyby się w komórki typu beta wysp trzustki produkujące insulinę u chorych na cukrzycę typu I). W tym ostatnim przypadku wystarczy, aby takie komórki po prostu przeżyły po przeszczepie i po indukcji dojrzewania i produkcji hormonu, który jest wydzielany do krwi. Jeżeli chodzi jednak o przeszczepione lub „odzyskane” z puli komórek pluripotencjalnych neurony nie wystarczy, aby po prostu przeżyły, ale muszą „odtworzyć” funkcjonalne obwody-połączenia z innymi neuronami oraz

---

z komórkami docelowymi. Pomimo ogromnej już zdobytej wiedzy droga do funkcjonalnej regeneracji struktur ośrodkowego układu nerwowego jest jednak ciągle daleka. Por. D. Adamek, B. Tomik, *Stwardnienie boczne zanikowe*, Kraków 2005, s. 78-79.