

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

Т. М. ЯКОВЛЕВА

**ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОК СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ
ПРИ РЕГЕНЕРАЦИИ. III**

(Представлено академиком Л. А. Орбели 27 IV 1944)

В предыдущих сообщениях ^(1, 2) мною было описано постепенное превращение фибробластов соединительной ткани плавниковой части хвоста аксолотля в клетки регенерационной бластемы эмбрионального типа. Избранными показателями такого преобразования являлись постепенное увеличение количества содержащихся в их цитоплазме пентозо-нуклеиновокислых соединений и постепенное изменение физико-химического состояния этих последних, выражающееся в потере ими способности к коагервации в форме гранул под воздействием нейтральрот. Регенерация хвоста есть случай регенерации органа ⁽³⁾, способность к которой свойственна лишь немногим низшим классам позвоночных. У высших позвоночных регенерационная способность существует лишь в форме регенерации тканей, которая протекает у всех позвоночных в основном по одному и тому же типу ⁽⁴⁾. Таким примером тканевой регенерации может быть выбран случай заживления у аксолотля кожной раны в области спинной мускулатуры. Целью данной работы и являлось выяснение вопроса, происходят ли у аксолотля и при регенерации тканей, в процессе заживления раны, изменения фибробластов, аналогичные установленным при изучении регенерации плавниковой части хвоста.

Материалом служили серые аксолотли в возрасте двух лет и старше. Каждому аксолотлю наносилась рана в области спинной мускулатуры размером 2×2 мм. Через различные промежутки времени животному в течение трех дней ежедневно инъецировалось $0,5 \text{ см}^3$ $0,5\%$ раствора нейтральрот по методике, предложенной Хлопиным ⁽⁵⁾. После этого кусочек, содержащий рану, фиксировался жидкостью Бирх — Гиршфельда. Срезы красились азур-эозином. Вопреки указаниям Хлопина, хорошее витальное окрашивание нейтральрот, с отложением гранул кринома удавалось очень редко, поэтому из 14 исследованных животных я выделяю только 3, показавших наиболее удачное прокрашивание.

Аксолотль № 8. Зафиксирован через 29 суток после нанесения раны. Процесс заживления раны проходит стадию начала дифференцировки коллагеновых волокон ⁽⁴⁾. В центре раны — раневой экссудат, по краям соединительнотканые элементы и усиленно образующиеся коллагеновые волокна. Все клетки соединительнотканного происхождения в области раны содержат гранулы пентозо-нуклеиновокислых соединений (крином). В центре раны можно встретить клетки с неполным отмишиванием пентозо-нуклеиновокислых соединений ⁽¹⁾. Клетки удаленных от раны участков соединительной ткани совершенно не содержат гранул.

Подсчет гранул начинался там, где в поле зрения микроскопа гранулы в клетке исчезали. Подсчет неизбежно заканчивался у края раны, где происходило усиленное новообразование волокнистых структур. Здесь же можно было наблюдать клетки, наиболее богатые пентозо-нуклеиновокислыми соединениями. В большинстве случаев этот участок отстоял от начала отсчета на 0,9 мм так, что все исследуемое пространство можно было разделить на три равных участка по 0,3 мм каждый. Подсчет гранул производился во всех клетках соединительной ткани, содержащихся между эпителием и мускулатурой спины аксолотля, путем зарисовки каждой клетки рисовальным аппаратом. Для сравнения результатов, полученных при изучении регенерации хвоста, с результатами, полученными в данной работе, нумерация участков начинается от края раны. Для каждого участка была построена вариационная кривая, выражающая распределение клеток на данном участке по числу содержащихся в их цитоплазме гранул (рис. 1 и табл. 1).

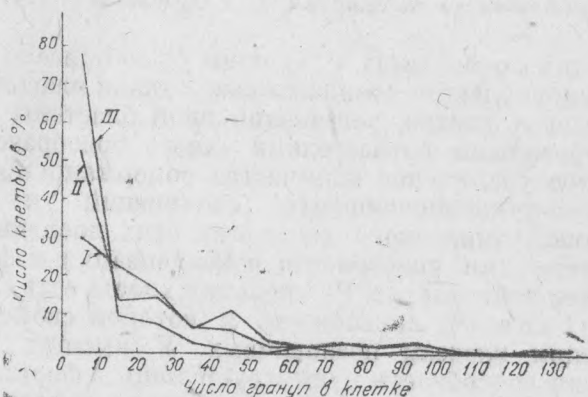


Рис. 1

Таблица 1

Участки	Расстояние от края раны в мм	N	$M \pm m$ гранул	R_m	$\sigma \pm m_\sigma$ гранул	R_σ	$E \pm m_E$
I	0,1—0,3	125	$26,02 \pm 2,24$		$25,11 \pm 1,99$		$3,03 \pm 0,44$
II	0,4—0,6	117	$18,00 \pm 2,04$	2,65	$22,08 \pm 1,45$	1,41	$10,15 \pm 0,45$
III	0,7—0,9	146	$8,88 \pm 0,85$	4,13	$10,27 \pm 0,60$	7,53	$11,28 \pm 0,41$

Вариационная кривая, соответствующая наиболее удаленному от раны участку (III), имеет односторонний характер и большой эксцесс. Эксцесс обусловлен концентрацией подавляющего большинства вариантов вокруг средней и показывает, что почти все клетки этого участка содержат не более 10 гранул пентозо-нуклеиновокислых соединений. Клеточный материал по содержанию пентозо-нуклеиновокислых соединений показывает значительную однородность ($\sigma = 10,27$ гранул). Кривая II участка показывает увеличение числа гранул пентозо-нуклеиновокислых соединений до 18 гранул в среднем на одну клетку. Увеличивается изменчивость вариационного ряда: материал становится менее однородным в результате появления клеток с большим содержанием пентозо-нуклеиновокислых соединений (до 140 гранул в одной клетке). В результате этого мы замечаем увеличение правого плеча кривой и уменьшение эксцессивности.

Кривая I участка, захватывающего край раны, уже почти не экцессивна. Клеток с большим количеством гранул на этом участке еще больше ($M=26,02$ гранул). Изменчивость вариационного ряда, т. е. разнородность клеточного материала вблизи раны, также наиболее велика ($\sigma = 25,11$ гранул).

Постепенность изменений свойств вариационных рядов демонстрирует постепенность изменений фибробластов подкожной соединительной ткани, аналогичных изменениям, наблюдавшимся при регенерации хвоста аксолотля.

Я особенно подчеркиваю обратную зависимость между величинами E и σ : чем ближе участок к области раны, тем меньше E и тем больше σ . Из однородных фибробластов подкожной соединительной ткани возникают регенерационные клетки, разнородные по содержанию пентозо-нуклеиновокислых соединений и в большинстве богатые ими. Эта разнородность подтверждает высказанное мною ранее предположение (2) о различной способности фибробластов изменяться под влиянием исходящих от раны импульсов, в зависимости от ступени развития каждой клетки в процессе гистогенеза соединительной ткани.

На некоторой части срезов оказалось возможным произвести подсчет гранул на участке, лежащем на 0,3 мм дальше в сторону раны (табл. 2). Вариационная кривая этого участка показывает как бы вторичное уменьшение количества клеток с большим содержанием пентозо-нуклеиновокислых соединений и сужение размаха изменчивости. Объяснение этого факта мы находим в том, что здесь, как и в центре раны, встречаются клетки с неполным отщеплением кринома (1), т. е. часть пентозо-нуклеиновокислых соединений их цитоплазмы остается неспособной к коацервации в форме гранул под воздействием нейтральрот, обуславливая базофильный фон плазмы. Здесь уместно высказать предположение, что, возможно, первыми теряют способность к коацервации клетки, содержащие наибольшее количество пентозо-нуклеиновокислых соединений, так как их-то мы и не находим на этом участке.

Таблица 2.

N	$M \pm m$ гранул	R_m	$\sigma \pm m_\sigma$ гранул	R_σ	$E \pm m_E$
148	$21,26 \pm 1,61$	1,72	$19,56 \pm 1,14$	2,01	$3,24 \pm 0,40$

В остальном кривые первого и рассматриваемого участков почти совершенно тождественны. Приведенные в табл. 2 разницы между их M и σ не достоверны.

Аксолотль № 7 был зафиксирован через 40 суток после нанесения раны. Это было очень старое животное, регенерационные процессы протекали у него настолько медленно, что стадия регенерации раны полностью соответствовала таковой у аксолотля № 8 (зафиксированного через 29 суток). Этот аксолотль представлял большие трудности для количественного исследования, так как он подвергся более сильному воздействию краски и фибробласты его даже в участках вполне нормальной ткани все-таки содержали в небольшом количестве гранулы пентозо-нуклеиновокислых соединений. Поэтому здесь был исследован произвольно взятый участок длиной 2,2 мм, одним своим концом захватывающий край раны, другим — участки ткани, вполне характерные для нормальных. Все исследованное пространство было разделено на два равных участка.

для которых, на основе подсчета количества гранул в клетке, были построены вариационные кривые (рис. 2 и табл. 3). Результаты полностью совпадают с полученными на аксолотле № 8.

Таблица 3

Участки	Расстояние от края раны в мм	N	$M \pm m$ гранул	R_m	$\sigma \pm m_\sigma$ в гранулах	R_σ	$E \pm m_E$
I	0—1,1	403	$16,29 \pm 0,90$	6,69	$18,01 \pm 0,64$	14,48	$3,57 \pm 0,24$
II	1,2—2,2	176	$8,93 \pm 0,63$		$8,31 \pm 0,21$		$5,79 \pm 0,37$

Второй задачей, которую предстояло решить, был вопрос — достигают ли фибробласты в своих изменениях при регенерации раны на спине аксолотля стадии клеток эмбрионального типа, неспособных к коацервации пентозо-нуклеиновокислых соединений под воздействием нейтральрот. Раны аксолотлей № 7 и 8 показывают стадию начала дифференцировки тканей, на которой, согласно данным, полученным при изучении регенерации хвостового плавника, все клетки blastемы вторично становятся способными к образованию гранул. Следовательно, клетки эмбрионального типа нужно было искать на более ранней стадии заживления раны.

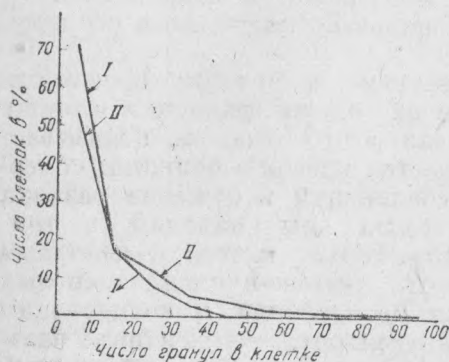


Рис. 2

Примером может служить аксолотль № 6, зафиксированный через 23 суток после операции. На краю раны (рис. 3, e) можно видеть клетки со светлым ядром, лишенным на фиксированных препаратах хроматиновых структур, большим отчетливым ядрышком



Рис. 3

и интенсивно синей цитоплазмой, не содержащей гранул. Несколько дальше от раны (b) лежат клетки с более темным ядром, с заметными структурами и более светлой плазмой, содержащей синие гранулы на голубом фоне. И, наконец, еще дальше от раны (a) мы встречаем типичные фибробласты с довольно темным ядром и почти бесцветной плазмой, на фоне которой хорошо заметны гранулы пентозо-нуклеиновокислых соединений. Таким образом, все переходы, как и в случае регенерации плавниковой части хвоста, налицо. Необходи-

димо все-таки заметить, что при регенерации раны, в противоположность наблюдавшемуся при регенерации хвоста, наряду с клетками, неспособными к коацервации пентозо-нуклеиновых соединений, можно в области раны встретить клетки как с полным, так и с неполным отшелушиванием кринома.

Таким образом, при регенерации соединительной ткани в процессе заживления раны на спине аксолотля, свойственном всем классам позвоночных, фибробласты претерпевают такие же превращения, какие они испытывают и при исключительном, загадочном процессе восстановления целого органа.

Если вспомнить, что по Касперсону ⁽⁶⁾ наличие пентозо-нуклеиновых кислот в цитоплазме всегда сопровождает усиленный синтез белков, мы можем высказать предположение, что наличие большого количества белков является основным качеством эмбриональной клетки и необходимым условием ее дальнейшей дифференцировки.

Институт цитологии, гистологии и эмбриологии
Академии Наук СССР

Поступило
27 IV 1944

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Т. М. Яковлева, ДАН, XLI, № 5 (1943). ² Т. М. Яковлева, ДАН, XLI, № 6 (1943). ³ P. Weiss, Arch. Micr. Anat. u. Ent. Mech., 104, H. 3 (1925),
⁴ В. Сунцова. Арх. анат., гист. и эмбр., XVI, № 2 (1937). ⁵ N. G. Chlopin, Arch. exper. Zellforsch., 4, 462 (1927). ⁶ T. Caspersson, Naturwiss., H. 3 (1941).