

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

Л. В. ПОЛЕЖАЕВ

**О ЗНАЧЕНИИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ РЕГЕНЕРАЦИИ
КОНЕЧНОСТЕЙ У БЕСХВОСТЫХ АМФИБИЙ**

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 7 X 1939)

У хвостатых амфибий для регенерации сформированных конечностей необходима нервная система (^{11,12,13}). Денервированные конечности не могут регенерировать, даже если денервация произведена не до ампутации органа, а после, в течение его регенерации (¹³). Для регенерации необходима, повидимому, симпатическая, а не двигательная или чувствительная нервная система (¹²).

У зародышей амфибий в нормальном онтогенезе конечности могут развиваться без участия нервной системы. Указания на это имеются в литературе (^{2,3,1}), и я определенно убедился в этом сам, получив развитие конечности у зародышей тритонов при эксплантации ее зачаткового материала в солевом растворе (⁶), когда нервная система, кровеносная система и другие части зародыша в эксплантат не входили.

Клетки зачатка способны образовать конечность в нормальном онтогенезе независимо от нервной системы, клетки же сформированной конечности при ее регенерации не могут образовать конечность без стимулирующего влияния на них со стороны нервной системы. Следовательно, во время онтогенеза морфогенетические свойства клеток конечности изменяются (⁷). Повидимому, эти изменения наступают не в зачатке, а в сформированной конечности. В таком случае можно предположить, что на некоторой стадии уже сформированная конечность способна к регенерации без участия нервной системы. С этим предположением хорошо согласовались следующие мои наблюдения. 1. Пересаженные и одновременно ампутированные конечности у головастика регенерируют очень быстро, в течение 8—12 дней, с той же скоростью, что и просто ампутированные конечности. Отсюда вероятно, что нервы не успевают подрасти к трансплантату и он регенерирует без участия нервной системы, что определенно можно сказать про первые стадии регенерации. 2. Пересаженный на хвост головастику обрубок конечности может регенерировать, несмотря на резорбцию хвоста при метаморфозе, когда нервная система в хвосте дегенерирует. В этом случае по крайней мере поздние стадии регенерации должны были протекать без участия нервной системы. Эти выводы и наблюдения заставили меня экспериментально переисследовать вопрос о значении нервной системы для регенерации конечностей. Кроме того я одновременно исследовал вопрос о роли нервной системы при утрате регенерационной способности конечностей у головастика.

Под опыт были взяты головастики *Rana temporaria* на I стадии (8), когда сустав между бедром и голенью у них еще не расчленен, скелет охрящевел, мускулы образованы закладками, состоящими из мезодермальных клеток (4, 5), и когда при ампутации в дистальной части голени ножки регенерируют почти в 100% случаев (8). Эксперимент заключался в том, что правая задняя ножка ампутировалась сначала в дистальной части голени, а затем у тела, после чего обрубок, состоящий из бедра, голени, аутопластически пересаживался в ранку, сделанную в эпителии живота. Можно было ожидать, что пересаженная ножка при регенерации или притянет к себе нервы из окружающих тканей и вследствие этого регенерат будет иннервирован или что регенерация произойдет без участия нервной системы. Для контроля у того же головастика ампутировалась в дистальной части голени левая задняя ножка, в которой при регенерации надо было проследить ход нервов. Полной регенерацией считалось восстановление типической пятипалой ножки, частичной—восстановление атипической ножки или ножки с нехваткой пальцев, а отсутствием регенерации—заращение раневой поверхности кожей или образование небольших, неопределенных выростов.

I серия. Эксперимент был проведен летом 1938 г. (1). Обрубок ножки пересаживался в заднюю треть области живота, которая, по указаниям Лебединского (3), наименее иннервирована. Эпителий трансплантата прилегал к эпителию краев ранки живота, мезодерма трансплантата прилежала к брюшине. Из 150 операций конечности прижились в 83 случаях, из которых 3 головастика были зафиксированы на ранних стадиях регенерации. Из оставшихся 80 головастиков подопытные ножки регенерировали в 75, частично в 3 и не регенерировали в 2 случаях, а контрольные регенерировали полностью в 73, частично в 6 и не регенерировали в 1 случае. Таким образом регенерация в опыте и контроле происходила одинаково.

Через 9—12 дней с момента ампутации, после полной регенерации конечностей 32 головастика были зафиксированы в ценнеровской жидкости для последующей гистологической обработки по Маллори, а 51 головастик был зафиксирован в формалине для последующей обработки по Бельшовскому с целью выявить тонкие нервные волокна. К сожалению, по техническому недоразумению последнее не удалось, вследствие чего у меня остался лишь материал, окрашенный по Маллори. Головастики были разложены на срезы так, что контрольные задние ножки были разрезаны фронтально, а пересаженные ножки продольно. Во всех случаях контрольные ножки были дифференцированы больше, чем пересаженные. У первых скелет начинал окостеневать, суставы были расчленены, мышцы состояли из поперечно-полосатых волокон; у вторых скелет только охрящевел, суставы не были расчленены, мышцы состояли только из закладок—густых скопленных определенным образом ориентированных мезодермальных клеток. Дифференцировка регенерата контрольной ножки значительно отличалась от дифференцировки старых тканей остатка органа и очень напоминала дифференцировку в трансплантате. В последнем дифференцированные мезодермальные ткани остатка органа отличались от мезодермальных тканей его регенерата только тем, что среди них встречались куски кости или старого хряща—части, не додифференцировавшиеся до конца. Окрашенные в желто-зеленый цвет нервы были хорошо видны в контрольной ножке и на сериальных срезах легко было проследить весь их путь от основания остатка органа до дистального конца регенерата. Они проходили на значительной части пути рядом с кровеносными сосудами между

(1) Эта серия опыта была проведена по моему заданию В. П. Крашенинниковой.

мышцами и скелетом. В пересаженных ножках и их регенератах, несмотря на тщательное изучение гистологических препаратов, нервы не были обнаружены. Кровеносные сосуды были хорошо видны и был прослежен весь их путь: вращание их в основание трансплантата и разветвление в нем и его регенерате.

Однако данные 1938 г. я не мог рассматривать как окончательные, так как специальная обработка материала с выявлением нервных волокон методом серебрения не удалась. Поэтому в 1939 г. я провел еще одну серию опытов.

II серия. Методика этой серии экспериментов отличалась от прежней нашей методики лишь в двух пунктах: 1) обрубок ножки пересаживался не в заднюю треть, а в середину живота, которая, по моему мнению, иннервирована менее, чем задняя треть; 2) для лучшего приживания с проксимальной части ножки снимался эпителий, после чего она подсовывалась под эпителий в кармашек, сделанный в животе.

Из 65 животных 2 погибли и в 6 случаях трансплантат отпал. У оставшихся 57 головастиков трансплантаты полностью регенерировали в 53, частично в 2 и не регенерировали в 2 случаях; в контроле же конечности регенерировали полностью в 54, частично в 1 и не регенерировали в 2 случаях. Животные были зафиксированы: 2 в смеси 70°-го спирта с формалином для тотального сохранения, 10 в ценнеровской жидкости для окрашивания по Маллори и 45 в 96°-м спирте для серебрения нервных волокон по Рамон-Кахалию. На этот раз методика серебрения удалась хорошо. В контрольной ножке и ее регенерате были хорошо видны зачерненные серебром не только толстые, многоволоконные, нервные ветви, но и тончайшие нервные волокна, густой сетью пронизывающие ткани регенерата. В пересаженной подопытной ножке можно было видеть только распадающиеся на части и волокна дегенерирующие нервы, находящиеся среди старых тканей и захваченные вместе с ними при пересадке; никаких других нервов обнаружить не удалось. Их не было ни около кровеносных сосудов, вращающихся в основании трансплантата, ни в тканях пересаженной ножки, ни в ее регенерате. В других случаях в основании трансплантата начинали вращать тонкие нервные волокна из окружающих тканей.

Данные обеих серий опытов убеждают нас в том, что пересаженные в область живота обрубки конечностей головастиков могут регенерировать без участия нервной системы и что морфологически эти регенераты ничем не отличаются от иннервированных регенератов контрольных ножек. Таким образом наши данные подтверждают высказанное мною выше предположение о том, что сформированные конечности у головастиков могут регенерировать без участия нервной системы, что зависит, вероятно, от того, что на этой стадии онтогенеза в тканях конечностей еще не произошли те изменения, которые обуславливают необходимость стимулирующего влияния нервной системы для течения регенерации. Повидимому, это относится также к регенерации хвоста и других органов. Обобщая, можно сказать, что зависимость регенерации от нервной системы обусловлена онтогенетическим развитием органа и что поэтому на известной стадии орган может регенерировать и без участия нервной системы.

Недавно, после того как моя работа была в основном уже закончена, появилась статья Шакселя и Шнейдера⁽¹⁰⁾, которые сообщают, что по их данным конечности у больших аксолотлей могут регенерировать без участия нервной системы. Подробностей, в частности методики выявления нервной системы в регенерате, авторы не указывают. Поэтому в настоящее время трудно объяснить расхождение между их выводами и заключениями Вейса⁽¹³⁾ и Шоттэ⁽¹¹⁾ о том, что у тритонов для регенерации конечностей необходима нервная система.

Наши данные показывают, что на I стадии конечности у головастиков могут так же хорошо регенерировать без участия нервной системы, как и при ее участии. Следовательно, потеря регенерационной способности на следующей (II) стадии происходит не благодаря изменению свойств нервной системы, а благодаря изменению свойств других тканей конечности. С этим выводом хорошо согласуются наши данные об изменении свойств мезодермы (^{5, 6, 9}) и эпителия (⁹), в связи с которым утрачивается регенерационная способность конечностей у бесхвостых амфибий. Интересно провести параллель между хвостатыми и бесхвостыми амфибиями. У хвостатых амфибий онтогенетическое изменение свойств тканей конечности приводит только к понижению регенерационной способности последних и к необходимости для регенерации стимулирующего влияния со стороны нервной системы. У бесхвостых амфибий онтогенетическое изменение свойств тканей конечности настолько глубоко, что конечности утрачивают способность к регенерации даже при наличии нервной системы. Повидимому, эти онтогенетические изменения тканей, главным образом, мезодермы и эпителия, так же как и онтогенетические изменения в общей гуморальной среде, увеличиваются в связи с повышением филогенетического развития животных; как известно, бесхвостые амфибии филогенетически развиты несколько выше, чем хвостатые. Вопрос о том, как изменяются в онтогенезе свойства нервной системы в отношении регенерационной способности органов, требует дальнейшего исследования.

В ы в о д ы. 1. Пересаженные в область живота обрубки конечностей (бедро и голень) у головастиков могут регенерировать без участия нервной системы.

2. Утрата регенерационной способности конечностей у головастиков связана не с изменениями в нервной системе, а с изменениями свойств в других тканях конечности (в мезодерме и эпителии).

3. Значение нервной системы различно для регенерации одного и того же органа, хотя бы и сформированного, на разных стадиях его онтогенеза, так как в онтогенезе изменяются свойства тканей и клеток органа.

Институт экспериментальной биологии
Академия Наук СССР

Поступило
8 X 1939

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ V. Hamburger, Roux' Arch., 114 (1928). ² R. G. Harrison, Am. Journ. Anat., 3 (1904). ³ N. G. Lebedinsky, Roux' Arch., 102 (1924). ⁴ Л. В. Полежаев, Арх. анат., гист. и эмбриол., 14 (1935). ⁵ L. W. Poléjaiev, Arch. d'Anat. microscop., 32 (1936). ⁶ Л. В. Полежаев, ДАН, XXI, № 7 (1938). ⁷ Л. В. Полежаев, Успехи совр. биол., 8 (1938). ⁸ Л. В. Полежаев, ДАН, XXII, № 9 (1939). ⁹ Л. В. Полежаев, ДАН, XXV, № 6 (1939). ¹⁰ Ю. Ю. Шаксель и Г. Г. Шнейдер, ДАН, XXII, № 9 (1939). ¹¹ O. Schotté, Rev. suisse zool., 33 (1926). ¹² O. Schotté, Compt. rend. des séances. Soc. de physique et d'histoire natur. de Genève, 43, № 3 (1926). ¹³ P. Weiss, Roux' Arch., 104 (1925).