

ЭВОЛЮЦИОННАЯ МОРФОЛОГИЯ

Л. В. ПОЛЕЖАЕВ

О МЕХАНИКЕ ВОЗОБНОВЛЕНИЯ РЕГЕНЕРАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ КОНЕЧНОСТЕЙ У БЕСХВОСТЫХ АМФИБИЙ

(Представлено академиком Н. В. Насоновым 29 I 1939)

Если на стадии утраты регенерационной способности у головастика *Rana temporaria* одновременно и на одинаковом уровне ампутировать обе задние конечности и затем травмировать остаток правой, то правая конечность регенерирует, а левая не регенерирует (^{4,5,6,9}). Возобновление регенерационной способности обусловлено восстановлением фазы накопления гесп. образованием регенерационной бластемы на ампутационной раневой поверхности конечности.

Какова механика возобновления регенерационной способности? Другими словами, какие изменения в остатке ампутированной конечности определяют образование регенерационной бластемы на ампутационной раневой поверхности?

Подопытным материалом служили головастики *Rana temporaria*. Эксперимент был проведен летом 1935 и 1938 гг. Животные были взяты на стадии, когда бедро и голень образуют тупой угол и развиты слабо (стадия IIa) или сильно (стадия IIb) и когда конечности утрачивают способность к регенерации при ампутации их в проксимальной части голени. Обе задние конечности одновременно ампутировались на одинаковом уровне — в проксимальной части голени. Остаток правой затем травмировался, левая служила контролем. Результаты эксперимента были разбиты на 2 группы: положительные (+), когда правая, подопытная ножка регенерировала лучше левой, контрольной, и отрицательные (—), когда правая ножка регенерировала хуже левой.

В своих прежних работах я травмировал остаток ампутированной конечности, прокалывая его иглой в продольном и поперечном направлении. Травматизация вызывала дедифференцировку тканей и пролиферацию. Таким образом оба эти фактора действовали одновременно. В настоящей работе я хотел рассмотреть значение каждого из них порознь. Для этого я применил метод травматизации различных частей остатка органа — проксимальной и дистальной, а также метод подсчета митозов в различных частях регенерирующей конечности: в бедре, остатке голени, тканях ампутационной раневой поверхности и регенерационном зачатке.

Травматизация проксимальной половины остатка ампутированной конечности достигалась поперечными проколами ее иглой. В этом случае ткани ампутационной раневой поверхности не должны были бы подверг-

нуться дедифференцировке, не испытывая влияния механического фактора, но должны были бы испытать действие продуктов распада, в избытке образующихся в проксимальной части органа. Если бы механика образования регенерационной бластемы сводилась к стимуляции клеточного размножения на ампутационной раневой поверхности, то конечность должна была бы регенерировать.

При травматизации дистальной части остатка ампутированной конечности проколы производились в продольном направлении. В этом случае ткани ампутационной раневой поверхности, помимо пролиферации вследствие действия на них продуктов распада, должны были бы дедифференцироваться из-за механического повреждения. Если бы механика образования регенерационной бластемы сводилась к накоплению клеточного материала в основном без пролиферации, а за счет непосредственного освобождения его из тканевых связей, то конечность должна была бы регенерировать.

Травматизация проксимальной и дистальной частей остатка органа производилась одинаковым количеством (15—20) проколов.

Для изучения ранних стадий процесса регенерации конечности были зафиксированы в два срока: на 3-й и 7-й день после ампутации. Далее они были фронтально разложены на сериальные срезы и окрашены гематоксилином Гейденгайна и эозином.

Результаты эксперимента сведены в таблице.

К положительным (+) результатам регенерации отнесены данные 4, 6 и 8 граф таблицы, к отрицательным (—)—данные 5, 7 и 9 граф. Отрицательные результаты объясняются тем, что в известном % случаев и при простой ампутации регенерация одной ножки может происходить лучше регенерации другой, причем этот процент одинаков для правой и левой ножек.

Из данных, сведенных в таблицу, следует, что травматизация проксимальной части остатка ампутированной ножки практически не приводит к возобновлению регенерационной способности: 15.0% положительных результатов регенерации против 13.1% отрицательных. Проксимо-дистальная травматизация приводит к возобновлению регенерационной способности: 30.8% положительных результатов регенерации против 2.4% отрицательных. Дистальная травматизация также, но лучше приводит к возобновлению регенерационной способности: 49.6% положительных результатов регенерации против 5.7% отрицательных.

Метод травматизации приводит к полной регенерации конечности на Iа стадии и к неполной регенерации на IIb стадии (20.0% положительных результатов регенерации против 2.9% отрицательных).

Гистологическое исследование регенерирующих конечностей позволило установить следующее:

А. Изменение в контрольных конечностях, не травмированных после ампутации. В бедре дифференцировка тканей продолжается, митозы в них единичны—около 10 на 20 сериальных срезов. В остатке голени происходит незначительное разрушение хрящевого вещества скелета и незначительное ослабление дифференцировки мышечных закладок. Во второй срок фиксации явления разрушения исчезают, гистологическая дифференцировка укрепляется. Изолированных клеток, находящихся вне тканевых связей, мало. Под эпителием в тканях ампутационной раневой поверхности и во всей толще мезодермальных тканей голени в оба срока фиксации находится большое число митозов—около 90 на 20 сериальных срезов. Митозов больше там, где тканевая дифференцировка ослаблена. Конечности не регенерируют. Они регенерируют, если имеет место дедифференцировка тка-

Травматизация	Было прооперировано	Зафиксировано на ранних стадиях	Осталось для учета	Результаты регенерации									Примечания					
				+			-			%								
				Количество случаев	%	Количество случаев	Количество случаев	%	Количество случаев	%	Количество случаев	%						
Iа Дистально-проксимальная . . .	—	47	404	29	36	5	48	—	8	1	4	6	1	32	30.8	2	1.9	Данные 1933—1938 гг.
	97 417	6 15	84 57	16 7	16 13	4 7	26 40	—	7 40	2 4	13 4	— 2	46 24	54.5 42.1	2 6	2.4 10.5	Данные 1938 г. Данные 1935 г.	
IIа Дистальная . . .	214	21	444	23	29	41	36	—	47	6	17	2	70	49.6	8	5.7		Суммарно
Прооксимальная »	97 129	6 13	86 74	50 12	40 18	3 22	3 3	4 3	2 3	2 5	7 6	5 2	42 42	13.9 16.2	44 40	12.8 13.5	Данные 1938 г. Данные 1935 г.	
	226	49	460	62	28	25	6	7	5	7	13	7	24	15.0	21	13.1		Суммарно
IIб Дистальная . . . Прооксимальная	40 40	— —	85 30	27 27	— —	— 1	— —	— 1	— —	— —	7 1	1 —	7 2	20.0 6.7	1 —	2.9 —	Данные 1938 г. Данные 1938 г.	

Стадия

IIа

IIб

ней—расплавление хрящевого скелета и распадение мышечных закладок на отдельные клетки. Число митозов при этом остается приблизительно таким же, как в нерегенерирующих конечностях.

В. Изменения в конечностях, проксимально травмированных после ампутации. В травмированном бедре скелет сохраняется, тогда как мышечные закладки разрушаются, дедифференцируются, распадаются на отдельные клетки, морфологически не отличимые от клеток регенерационной бластемы. В оба срока фиксации в этой травмированной зоне наблюдаются многочисленные митозы—около 80 на 20 сериальных срезов. На 7-й день после ампутации освободившиеся из своих тканевых связей клетки постепенно начинают определенным образом ориентироваться—восстанавливается структура разрушенных мышечных закладок. В голени ткани изменяются так же, как в контрольных ножках: вначале несколько ослабленная дифференцировка укрепляется и продвигается; митозов приблизительно столько же, сколько в контроле. Конечности не регенерируют. В тех случаях, когда они регенерируют, имеет место дедифференцировка тканей.

С. Изменения в конечностях, дистально травмированных после ампутации. Под эпителием в тканях ампутационной раневой поверхности и в воспаленных, разбухших, мезодермальных тканях голени рассеяны большие очаги кровоизлияний. Скелет почти нацело расплавляется, освобождающиеся из перихондрия и хрящевых капсул клетки вполне жизнеспособны—хорошо митозируют. Мышечные закладки распадаются на отдельные клетки. Во второй срок фиксации в конечности можно различать 3 зоны: проксимальную—бедро, где дифференцировка тканей значительно продвинулась, образовались поперечно-полосатые мышечные пучки и хрящевой скелет с началом окостенения; среднюю—остаток голени, где ткани совершенно дедифференцировались, возникла однородная, плотная масса мезенхимных клеток, среди которых остались сгущения с признаками охрящевания и сгущения с элементами мышечных волокон; дистальную—полусферовидный или конический регенерационный зачаток, подэпителиальная часть которого состоит из довольно рыхло расположенных мезенхимных клеток, потоки которых непосредственно переходят в мезодермальную ткань голени. Число митозов одинаково в оба срока фиксации и приблизительно равно числу митозов в контрольных, нерегенерирующих ножках. Митотический коэффициент—отношение числа митозов к числу неделящихся клеток в %—низок для регенерационного зачатка в период накопления в нем клеток. Следовательно накопление клеток в зачатке происходит в основном без пролиферации. Если в раневой поверхности часть тканей сохранила дифференцировку, то регенерационный зачаток возникает лишь от другой части тканей, дедифференцировавшихся.

Прролиферация возникает как в тканях ампутационной раневой поверхности, так и в мезодермальных тканях голени, отдаленных от последней, и вызывается ампутацией органа resp. действием продуктов распада. После ампутации травматизация остатков конечностей не усиливает пролиферацию: число митозов в среднем одинаково в подопытных и контрольных конечностях. Регенерация как при простой ампутации, так и при травматизации происходит только при условии дедифференцировки тканей. На начальной стадии образования регенерационного зачатка число митозов в нем невелико и не больше числа митозов в тканях ампутационной раневой поверхности нерегенерирующей конечности. Накопление клеток в зачатке происходит очень быстро и бурно. Все эти факты заставляют считать, что при травматизации возобновление регенерационной способности конечности определяется прежде всего дедифференцировкой

тканей в области ампутационной раневой поверхности. Мезодермальные ткани дистальной части конечности—скелет и мышечные закладки—расплавляются, в результате образуется мощный источник, из которого быстрыми потоками выходят клетки и, стремясь к эпителию, образуют на ампутационной раневой поверхности регенерационную бластему. Проллиферация при этом играет второстепенную роль. Она должна играть главную роль на более поздних стадиях, когда дедифференцировка прекратится и когда зачаток насытится клеточным материалом, притекшим к нему из остатка ампутированного органа. Такие же отношения имеют место и для процесса нормальной регенерации конечностей головастика и повидимому вообще для регенерации у способных к регенерации животных. Эту теорию образования регенерационного зачатка в основном без пролиферации, а за счет притока неделящихся клеток, освобождающихся из тканевых связей, я развивал уже в ряде других своих работ (⁶⁻¹⁴), противопоставляя ее единственной существовавшей до настоящего времени теории, по которой регенерационный зачаток образуется только вследствие пролиферации. За последнее время к моему положению присоединилась Яковлева (⁶), показавшая, что при трансплантации в конечностях головастика имеет место дедифференцировка тканей.

Утрата регенерационной способности конечностей у головастика обусловлена продвижением гистологической дифференцировки. Последняя может иметь двойное значение: 1) или тормозить процесс накопления клеточного материала в регенерационном зачатке, удерживая клетки в тканевых связях (наши данные) или подавляя процесс пролиферации (^{15, 2}); 2) или тормозить органологическую дифференцировку (^{8, 11, 3}). В настоящее время я исследую вопрос, может ли регенерационная способность утрачиваться независимо от гистологической дифференцировки, так как известно, что на регенерационную способность влияют и другие факторы, например гуморальная среда (¹).

Выводы: 1. У головастика *Rana temporaria* возобновление регенерационной способности конечностей достигается травматизацией только дистальной, а не проксимальной части остатка ампутированного органа.

2. Травматизация обуславливает пролиферацию и дедифференцировку. Проллиферация одинаково интенсивна в травматизированной и нетравматизированной ампутированных конечностях. Одна пролиферация не может привести к возобновлению регенерационной способности.

3. Утрата регенерационной способности определяется продвижением гистологической дифференцировки, а возобновление этой способности—дедифференцировкой мезодермальных тканей.

4. Дедифференцированные мезодермальные ткани—скелет и мышечные закладки—являются источником, из которого клеточный материал в основном без пролиферации поступает в регенерационный зачаток.

Институт экспериментальной биологии.
Академия Наук СССР.

Поступило
3 II 1939.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ R. A. Boggsuk, Roux' Arch., 133 (1935). ² A. Fischer u. R. Parker, Arch. f. exp. Zellforsch., 8 (1929). ³ И. И. Морозов, ДАН, XX, (1938). ⁴ Л. В. Полежаев, Биол. журн., 2 (1933). ⁵ Л. В. Полежаев, ДАН, I (1935). ⁶ Л. В. Полежаев, Арх. анат., гист. и эмбр., 14 (1935). ⁷ Л. В. Полежаев, Биол. журн., 4 (1935). ⁸ Л. В. Полежаев, Зоол. журн., 15 (1936). ⁹ L. W. Poléjaiev, Arch. d'anat. microscop., 32 (1936). ¹⁰ L. W. Poléjaiev, Bull. Biol. France et Belg., 70 (1936). ¹¹ Л. В. Полежаев, ДАН, XV, 6—7 (1937). ¹² Л. В. Полежаев при участии В. Н. Фавориной, ДАН, IV, № 4 (1934). ¹³ L. W. Poléjaiev, Unter Beteiligung von W. N. Faworina, Roux' Arch., 133 (1935). ¹⁴ Л. В. Полежаев при участии В. Н. Фавориной, Сборн., посвященный академику Н. В. Насонову (1937). ¹⁵ J. J. Schmalhausen, Roux' Arch., 108 (1926). ¹⁶ Т. М. Яковлева, Биол. журн., 7 (1938).