

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—полусферический 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 травмированной и нетравмированной 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).