

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

Л. В. ПОЛЕЖАЕВ

**ВЛИЯНИЕ СКЕЛЕТА НА РЕГЕНЕРАЦИЮ КОНЕЧНОСТЕЙ
У ВЗРОСЛЫХ ANURA**

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 20 III 1947)

Цель предлагаемой статьи — сообщить некоторые экспериментальные данные о влиянии скелета на регенерацию конечностей у взрослых бесхвостых амфибий. Основанием для проведения настоящих экспериментов послужили данные гистологического исследования регенерировавших конечностей у взрослых бесхвостых амфибий⁽⁴⁻⁶⁾ и данные по значению уровня ампутации для регенерации конечностей у взрослых лягушек^(3,7,8). У взрослых лягушек как при простой ампутации, так и при экспериментальной стимуляции регенерируют только атипические конечности, лишённые дистальных частей⁽²⁻⁹⁾. Гистологическое исследование показывает, что в регенерат входят хрящевые скелетные элементы, соединительная ткань, мышцы, нервы, кровеносные сосуды и кожа. Однако основная масса регенерата состоит из хрящевых элементов, непосредственно связанных со старым скелетом остатка органа. Мышцы регенерируют плохо, а в некоторых случаях вовсе отсутствуют в регенерате⁽⁴⁾. Все это дает основание предполагать, что при регенерации конечностей у взрослых бесхвостых амфибий скелет играет весьма значительную роль. Отсюда возникла мысль экспериментально проверить значение скелета для регенерации конечностей у этих объектов.

В последние годы было показано, что регенерация конечностей у взрослых лягушек зависит от уровня ампутации: на проксимальных уровнях регенерация происходит значительно хуже, чем на дистальных. По данным Торитона^(7,8), у взрослых лягушек *Rana pipiens* при ампутации в районе плеча конечности совершенно не регенерируют, раны гладко заживают, а при ампутации дистальной части предплечья регенерируют атипические образования, состоящие из хряща, волокнистой соединительной ткани и кожи. В моих опытах на взрослых лягушках *Rana temporaria* в общем получались сходные результаты: при ампутации дистальной части предплечья регенерируют атипические конечности, а при ампутации плеча происходит либо гладкое заживление раны, либо регенерация конических выростов, органологически не дифференцированных и состоящих из хряща и кожи⁽⁴⁾. Такие же результаты получились в опытах над жерлянками *Bombina bombina*. Возникает вопрос, от каких частей конечности (скелета, мышц, кожи и др.) зависит градиентное различие ее регенерационной способности. В настоящем сообщении делается попытка установить роль скелета в этих градиентных различиях. Возможность регенерации проверялась: 1) путем удаления скелета из дистальных районов конечностей с последующей их ампутацией по бескостному участку и 2) путем пересадки скелета из дистальных районов, способных к регенерации, в проксимальные, где регенерационная способность очень понижена, с последующей их ампутацией. Каждая серия эксперимента сопровождалась контролем, показывающим, про-

исходит ли регенерация конечностей при их ампутации на дистальных или проксимальных уровнях.

В качестве подопытного материалы были взяты половозрелые жерлянки *Vombina bombina*. Оперировались правые и левые передние конечности. Опыт длился с июня 1946 г. по февраль 1947 г.

1. Контроль — простая ампутация запястья. В наших прежних опытах над жерлянками оказалось, что при ампутации дистальной части предплечья в части случаев регенерация конечности происходит, а в другой части не происходит^(2,8). В связи с этим в настоящих опытах ампутация производилась на еще более дистальном уровне — по запястью. У 8 жерлянок конечности ампутировались

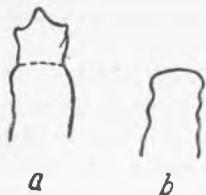


Рис. 1

по запястью. Через сутки после ампутации раны эпителизируются. В течение последующих 5—10 дней в области раны наблюдаются явления воспаления — некоторая гиперемия и набухание тканей. Уже через 10—20 дней после ампутации появляются признаки образования бластемы — раневая поверхность делается выпуклой и полупрозрачной. Затягивания раневых поверхностей старой кожей не наблюдается. Далее бластемы постепенно растут. Через 1,5 месяца после ампутации в 7 случаях из 8 регенерировали атипические зачатки конечностей и в 1 случае регенерация отсутствовала — на ране образовались два небольших отростка и на этом процесс закончился. Регенерационные зачатки имеют форму лопаточек с 2—3 зубчиками на дистальном конце. Полупрозрачные и нежные, они явно отграничиваются от темных грубых тканей остатка органа. В последующие месяцы они немного вырастают, становятся более плоскими, а их зубчики вытягиваются в длину, напоминая зачатки пальцев (рис. 1, а). Дальше их развитие не идет. По своему внутреннему строению они состоят из нескольких обособленных друг от друга хрящей, заходящих также в пальцевидные выросты, грубой волокнистой соединительной ткани, слабо развитой мускулатуры, кожи, нервов и кровеносных сосудов. Интересно, что предплечья у таких регенерировавших конечностей не утолщены, вокруг ulna-radius callus развит слабо. В 1 из 8 случаев, где регенерация отсутствовала и на ране образовалось только два небольших отростка, содержащих хрящики, предплечье было сильно утолщено за счет образования callus вокруг ulna-radius.

В общем, как показывает опыт, при ампутации запястья у половозрелых жерлянок происходит регенерация атипических конечностей.

2. Ампутация конечностей после удаления скелета. Известно^(10, 11), что при полном удалении (с экзартикуляцией в суставе) скелетные элементы в конечностях у хвостатых амфибий не восстанавливаются. С другой стороны, доказано, что при ампутации таких бескостных конечностей у хвостатых амфибий (аксолотлей, тритонов) регенерируют типические конечности, содержащие скелет, хотя в остатке органа скелет так и не восстанавливается^(1, 9). Если при регенерации конечностей у взрослых хвостатых и бесхвостых амфибий скелет имеет одинаковое значение, то можно ожидать, что у последних конечности регенерируют при удалении скелета.

На наружной стороне дистальной части предплечья делался небольшой разрез в коже, через который удалялись кости предплечья (ulna-radius) и запястья (carpus). Затем на ранку накладывались швы, которые через 3—4 дня снимались. Ранки заживали быстро. Первые дни после операции конечности довольно сильно воспаляются, предплечье и запястье сильно набухают. Однако вскоре явления воспаления проходят. Бескостные конечности укорачиваются, образуя характерные поперечные складки, возникающие вследствие сокращения

мышц. Через 10 дней после операции конечности ампутируются по запястью, лишённому скелета. Для того чтобы предотвратить возможное затягивание раны старой кожей, края последней срезаются. Вскоре, через 1—2 дня после ампутации, раны эпителизируются. В течение последующих 5 дней раны гиперемированы и образуют выпуклые поверхности, покрытые только эпителием. Далее, однако, никаких признаков образования бластемы не замечается, раны постепенно затягиваются старой кожей, поверхность их прогрессивно уменьшается и зарастает дермальными волокнами.

Во всех 12 случаях, где была произведена удачная операция, произошло гладкое заживление ран (рис. 1, *b*). Скелет внутри предплечья и запястья также не восстановился. Оперированные конечности были мягкими и складчатыми. В течение последующих 6 месяцев результат опыта не изменился. В одном случае операция была произведена неудачно, вследствие чего были удалены только кости *carpus*, а *ulna-radius* была сохранена на месте. После ампутации по запястью наблюдалось некоторое укорочение запястья за счет сокращения мышц и приближения раневой поверхности к дистальному концу *ulna-radius*. Раневая поверхность несколько уменьшилась из-за стягивания краев старой кожи, тем не менее бластема образовалась и регенерировал атипичский уплощенный зачаток, развитый значительно хуже, чем регенераты, образующиеся после простой ампутации запястья.

Предлагаемые данные показывают, что при наличии скелета в запястье конечности могут атипически регенерировать, а при отсутствии скелета совершенно не регенерируют. Это значит, что у взрослых жерлянок при регенерации конечностей скелет играет какую-то весьма важную роль. Он может иметь значение: 1) источника регенерационного материала; 2) фактора, вызывающего или усиливающего разрушение и дедифференцировку тканей в области раны, необходимых для образования бластемы; 3) фактора, оказывающего какое-то морфогенное или стимулирующее действие на регенерацию, например, побуждая бластему к образованию хрящей; 4) механического фактора, обуславливающего растяжение тканей и сохранение ампутиционной раневой поверхности. Дальнейшие опыты помогут продифференцировать эти возможности. Некоторые сведения по этому поводу могут дать опыты с пересадкой скелета, о которых сообщается ниже.

3. Контроль — простая ампутация плеча. Эта серия служила контролем к следующей серии опыта. Конечности ампутировались в дистальной части плеча. Из 17 операций к концу опыта в 16 случаях имело место гладкое заживление раны, в 1 случае регенерировал большой регенерационный зачаток, имеющий вид довольно длинного толстого конического выроста. При отсутствии регенерации в течение первых 1—3 недель после ампутации раны эпителизировались, зарубцовывались и зарастали кожей. Во многих случаях при заживлении раны происходило сильное стягивание краев старой кожи, благодаря чему поверхность раны значительно уменьшалась.

4. Ампутация конечности после пересадки скелета. Если скелет дистальных районов конечности является главным источником образования регенерационного материала или каким-либо путем стимулирует регенерацию, то можно ожидать, что при его пересадке в проксимальный район можно будет наблюдать регенерацию. Если же этот скелет не имеет существенного значения для регенерации, то при его пересадке регенерация проксимальных сегментов вряд ли будет стимулирована.

В дистальной части плеча разрезалась кожа и в толщу мышц вдоль плечевой кости (*humerus*) пересаживались *ulna-radius* и *carpus* таким образом, что *carpus* приходился на уровне дистальной части плеча. Через 2—3 дня после пересадки швы с ранки снимались.

Плечо, заключающее трансплантат, воспалялось и набухало. Через 10 дней, после уменьшения явления воспаления производилась ампутация дистальной части плеча. На ампутационную раневую поверхность выходили концы humerus и пересаженных костей carpus. В некоторых случаях вокруг раневой поверхности срезались края старой кожи.

Через сутки после ампутации раны эпителизируются. В течение последующих 5—10 дней раневые поверхности остаются широкими, ткани в них сильно гиперемизируются и воспаляются. Далее судьба трансплантатов оказывается различной. В 2 случаях из 12 трансплантаты сохраняются на месте, располагаясь вдоль humerus. Регенерации конечности не наблюдается. Раневая поверхность не зарастает кожей, но гладко заживает. Против концов трансплантата образуются небольшие хрящевые выросты. В остальных 10 случаях carpus отпадает

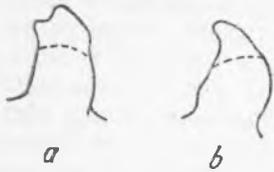


Рис. 2

и дистальный конец ulna-radius отклоняется наружу от humerus. При этом он или погружается в толщу мышц и оттягивает в сторону кожу плеча, благодаря чему конец последнего как бы раздваивается, или прободает кожу и выходит наружу, сохраняясь в таком положении в течение нескольких месяцев. Из этих 10 случаев в 4 регенерация отсутствует, хотя раневые поверхности не затягиваются старой кожей, а эпителизируются и зарубцовываются; в остальных 6 случаях (50%) происходит некоторая регенерация. В 2 случаях регенерируют довольно длинные уплощенные зачатки с зубчиками на конце (рис. 2, a), в 4 случаях образуются регенерационные конусы (рис. 2, b).

Таким образом, из сравнения с контролем видно, что в опыте с пересадкой скелета наблюдается стимуляция процесса регенерации. В данных опытах не удалось установить, что скелет имеет значение источника регенерационного материала, хотя эта возможность является весьма вероятной и будет подвергаться дальнейшему исследованию. Настоящие опыты показывают, что стимуляция регенерации наблюдается в тех случаях, где трансплантат отклоняется от тканей области раны и сам в регенерации органа не участвует. Стимуляция достигается, повидимому, тем, что трансплантат вызывает длительное раздражение, гиперемию и воспаление тканей плеча.

На основании всех описанных здесь данных можно заключить следующее:

1. У взрослых *Anura* скелет играет значительную роль в регенерации конечности. При ампутации дистальной части конечности в присутствии скелета происходит регенерация атипических конечностей, а в отсутствие скелета раны гладко заживают.
2. Для регенерации конечностей у взрослых *Anura* скелет имеет большее значение, чем для *Urodela*.
3. Регенерацию проксимальных районов конечностей у взрослых жерлянок можно несколько стимулировать путем пересадки в них скелетных элементов из дистальных районов.

Институт цитологии, гистологии и эмбриологии
Академии Наук СССР

Поступило
20 III 1947

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ V. Bischler, Rev. Suisse Zool., 33, 431 (1926). ² Л. В. Полежаев, ДАН, 49, № 8 (1945). ³ Л. В. Полежаев, ДАН, 54, № 5 (1946). ⁴ Л. В. Полежаев, ДАН, 54, № 7 (1946). ⁵ S. M. Rose, J. Exp. Zool., 95, № 2 (1944). ⁶ S. M. Rose, J. Morph., 77, № 2 (1945). ⁷ C. S. Thornton, Anatom. Rec., 89, 559 (1944). ⁸ C. S. Thornton and T. W. Shields, Copeia, 1, 40 (1945). ⁹ P. Weiss, Roux. Arch., 104, 395 (1925). ¹⁰ H. Wendelstadt, Arch. f. mikr. Anat., 57, H. 4 (1901). ¹¹ H. Wendelstadt, ibid., 63, H. 4 (1904).