

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

А. СТРИГАНОВА

ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ТКАНЕЙ РЕГЕНЕРИРУЮЩЕГО ОРГАНА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ СРЕДЫ

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 20 II 1940)

Полученные в предыдущих работах (2, 3) данные показали, что протеолитическая активность регенерирующего органа изменяется соответственно стадиям развития органа. В первоначальную стадию образования регенерационной почки протеолитическая активность ее очень низка. В дальнейшем она ясно возрастает и на стадии зачатка органа достигает высоких показателей протеолиза. Стадия интенсивного роста в основном сформированного молодого органа характеризуется снова резким угнетением протеолиза. На основе этих данных был сделан вывод, что процессы дифференцировки при регенерации сопровождаются повышением протеолиза, процессы роста, наоборот, — торможением. Гольдштейн (1) на основании своих данных по изучению активности тканевых протеиназ (катепсина) при нормальном развитии конечности у головастиков *Pelobates fuscus* приходит также к заключению, что процессы формообразования сопровождаются большим накоплением катепсина, чем процесс недифференцированного роста.

Согласно литературным данным о протеолизе ткани эмбриона характеризуются низкими показателями протеолиза. Так, по данным Bögger и Peters (4) в тканях 10-дневного куриного эмбриона обнаруживается весьма незначительное количество катепсина. Mystkowski (5) на основании своих данных также приходит к выводу, что активность катепсина куриного эмбриона очень низка и не обнаруживает больших изменений в течение всего периода эмбрионального развития. Однако согласно данным этого автора на определенных стадиях развития эмбриона наблюдаются ясные различия активности катепсина в различных участках эмбриона. Им было обнаружено, что у 6-дневного эмбриона количество катепсина гораздо больше в хвостовой части, чем в головной. У 18-дневного эмбриона этой разницы уже не наблюдалось. Большое накопление катепсина в хвостовой части у 6-дневного эмбриона автор ставит в связь с развитием конечностей в этой области. Далее следует упомянуть данные Гольдштейна (1), согласно которым вытяжка из куриного эмбриона в первые дни инкубации не оказывает никакого гидролитического действия, т. е. является совершенно неактивной. Гидролитическое действие появляется, только начиная с 6—8-го дня инкубации.

Принимая во внимание эти данные, можно допустить, что и в регенерационной почке на первоначальной стадии регенерации низкий уровень

протеолиза, возможно, обуславливается недостаточным количеством катепсического фермента в ней.

Однако остается неясным вопрос, чем же обуславливаются изменения интенсивности протеолиза в регенерирующем органе на последующих стадиях развития. Связаны ли они с качественными изменениями протеолитических ферментов регенерата или это происходит под влиянием сопутствующих условий, изменяющих направление деятельности ферментов.

Согласно современному учению о протеолитических ферментах характерными свойствами тканевых протеиназ являются установленный для них оптимум действия, который лежит в пределах $pH=4-7$, и их способность активироваться под влиянием ряда веществ (HCN , H_2S и др.).

Возникает вопрос, изменяются ли эти свойства в тканях регенерирующего органа по сравнению с нормальными тканями? Результаты наших предыдущих исследований были получены в опытах, проведенных в среде при $pH=4,3$ (оптимум действия для катепсинов) и без применения активаторов. Возможно, что при других условиях pH -среды протеолитическая активность тканей регенерата будет возрастать на тех стадиях, где мы наблюдали угнетение.

Для выяснения этого вопроса было проведено сравнительное изучение активности энзиматических вытяжек, экстрагируемых из нормальной и регенерирующей конечности при $pH=4,3$ (ацетатный буфер) и $pH=6$ (фосфатный буфер). Опыты проведены на аксолотлях в возрасте 8—10 месяцев. Ампутировались обе задние конечности на уровне середины бедра. Для каждого опыта использовались ткани от 15—20 аксолотлей. Активность вытяжек определялась по интенсивности переваривания под воздействием их желатины и растертой мышцы*. Степень переваривания устанавливалась титрованием по Willstätter-Waldschmidt-Leitz'у спиртовым раствором КОН. Переваривание проводилось в течение 20 час. при 37° .

Средние данные по определению активности вытяжек из тканей нормальных и регенерирующих аксолотлей. (Выраженные в $см^3$ 0,05 N раствора КОН, пошедшего на титрование 1 $см^3$ перевариваемой смеси при различных pH)

1. Активность вытяжек из тканей конечности нормального аксолотля при $pH=4,3$ на желатину — 0,21; на мышечный субстрат — 0,08
» $pH=6$ » » — 0,18; » » » — 0,06.
2. Активность вытяжки из тканей регенерата (P) и неповрежденной конечности ($НК$) регенерирующего аксолотля при:

Стадии регенерации и возраст регенерата	$pH = 4,3$ на:				$pH = 6$ на:			
	желатину		мышцу		желатину		мышцу	
	P	$НК$	P	$НК$	P	$НК$	P	$НК$
Регенерационная почка—12—14 дней (среднее из 2 опытов)	0,32	0,35	0,07	0,10	0,25	0,23	0,04	0,09
Зачаток органа — 17—18 дней (среднее из 3 опытов)	0,37	0,40	0,16	0,15	0,16	0,17	0,11	0,15
Начало внешней дифференцировки — 22—24 дня (среднее из 3 опытов)	0,19	0,38	0,12	0,15	0,12	0,18	0,07	0,07
Полностью сформировавшийся орган — 42 дня. 1 опыт	0,22	0,21	0,07	0,06	0,14	0,18	—	0,06

* Подробное описание применяемой методики изложено в предыдущей работе (2).

Как видно из приведенной таблицы, показатели активности вытяжек из тканей регенерата, определяемые в условиях среды при $pH=6$, в основном повторяют закономерности изменений активности вытяжек на различных стадиях при $pH=4,3$. Однако уровень их при $pH=6$ всегда остается ниже, а колебания между стадиями менее рельефны, чем при $pH=4,3$. Далее, показатели активности вытяжек из тканей неповрежденных конечностей при $pH=6$ колеблются в пределах установленной нормы, тогда как при $pH=4,3$ они возрастают почти вдвое. Следовательно, на основании полученных данных можно сказать, что оптимум действия для протеиназ тканей регенерата не сдвигается по сравнению с нормальными конечностями и особенности протеолиза в тканях регенерата наиболее отчетливо обнаруживаются при $pH=4,3$. Отсюда можно заключить, что установленные в предыдущей работе закономерные изменения интенсивности протеолиза в регенерирующем органе, повидимому, не связаны со сдвигами оптимума действия для тканевых протеиназ, а обуславливаются какими-то другими факторами.

Дальнейшее изучение этого вопроса послужит предметом следующего сообщения.

Лаборатория механики развития
Института эволюционной морфологии
Академия Наук СССР

Поступило
22 II 1940

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Б. И. Гольдштейн, Биохимия тканевых протеиназ (1938). ² Д. Рывкина и А. Стриганова, Изв. Акад. Наук СССР, сер. биол., № 5 (1939). ³ А. Стриганова, Изв. Акад. Наук СССР, сер. биол., № 5 (1939). ⁴ G. B ö r g e r u, T. P e t e r s, Nor-Seyl. ZS. physiol. Chem., 214 (1933). ⁵ E. M y s t k o w s k i, Biochem. Journ., 30, № 5 (1936).