

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

Л. В. ПОЛЕЖАЕВ и А. Е. ГУРВИЧ

**ВЛИЯНИЕ КОЛХИЦИНА НА РЕГЕНЕРАЦИЮ ОРГАНОВ
У БЕСХВОСТЫХ АМФИБИЙ**

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 26 XI 1947)

При образовании регенерационных зачатков сложных органов у низших позвоночных можно различать 2 фазы: 1) фазу первичного накопления, возникающую путем накопления клеточного материала в основном без пролиферации, за счет освобождения клеток из тканевых связей путем дедифференцировки старых тканей остатка органа, и 2) фазу вторичного накопления, при которой рост и дифференцировка зачатка сопровождаются усиленным клеточным размножением⁽⁴⁾. Эти фазы были установлены при помощи подсчета митозов на последовательных стадиях регенерации и путем пересадки бластем. Роль клеточного размножения при регенерации органов можно также исследовать методом искусственного его торможения или подавления. Таким методом может служить обработка ампутированных раневых поверхностей растворами колхицина. Как известно, колхицин тормозит процесс клеточного размножения (увеличение числа клеток); он нарушает веретено, благодаря чему разделившиеся хромосомы не могут разойтись к полюсам⁽²⁾. При этом у растений часто образуются полиплоидные клетки, а у животных полиплоидия возникает редко.

Настоящая работа была проведена с целью углубить наши предыдущие исследования по влиянию колхицина на регенерацию⁽⁵⁾, а также выяснить некоторые противоречия в литературных данных по этому вопросу.

Торнтон⁽⁸⁾ обрабатывал личинок амблостомы с ампутированными конечностями раствором колхицина 1:1000 и 1:1500. Регенерация конечности подавлялась, а остаток органа разрушался и полностью исчезал. Л. В. Полежаев⁽⁵⁾ обрабатывал молодых головастиков *Rana temporaria* раствором колхицина 1:1000 в течение 269 час. и наблюдал лишь некоторое замедление в регенерации ампутированных задних конечностей. При этом оказалось, что все делящиеся клетки были задержаны на стадии метафазы. Люшер^(6,7) ампутировал хвосты у головастиков *Xenopus laevis* и обрабатывал их растворами колхицина от 1:100 000 до 1:7000. Регенерация хвостов была заторможена и приблизительно в 35% случаев подавлена. Интересно, что начальная стадия регенерации наблюдалась во всех случаях, что подтверждает данные Л. В. Полежаева⁽⁴⁾ о фазе первичного накопления. Расхождение в результатах работ цитированных авторов можно объяснить различными причинами: в их опытах были животные разных видов, употреблялась различная методика и исследовались различные органы.

Наши эксперименты проводились на головастиках *Rana temporaria* Ib стадии, когда конечности у них после ампутации дистальнее

колена регенерируют в 100% случаев (3). Основным экспериментом состоял в одновременной ампутации конечности и хвоста у одного и того же головастика и последующей обработки животных растворами колхицина. Ампутировались всегда правые задние конечности на уровне дистальной части голени и хвосты на уровне их дистальной трети. После операции животные на 1—2 суток помещались в холодильник при температуре 3—6°С, что уменьшало процент их смертности. Сразу



Рис. 1

после ампутации головастики помещались в испытываемые растворы. Кратковременная обработка была одновременной. При длительной обработке животные помещались в раствор на первые 24 часа, а затем по 13—15 час. с вечера до утра в каждые последующие сутки. Днем они находились в воде и кормились нитчатой водорослью (*Spirogyra*). В ходе опыта выяснилось, что имеющийся в нашем распоряжении колхицин значительно токсичнее того, с которым одному из нас (5) приходилось иметь дело раньше. Так, в опытах Л. В. Полежаева (5), а также в опытах Торнтонна (8) животные хорошо переносили длительную обработку (в течение 10—20 дней) крепкими растворами колхицина 1:1000, а в предлагаемых опытах, как и в опытах Люшера (6,7), даже более слабые растворы колхицина (1:20 000 и 1:80 000) оказывались весьма токсичными при значительно меньшем сроке обработки.

В контроле головастики после ампутации помещались в воду и обработке колхицином не подвергались. Каждой серии опыта соответствовала контрольная серия. Во всех 4 контрольных сериях результаты получились однозначными: у всех

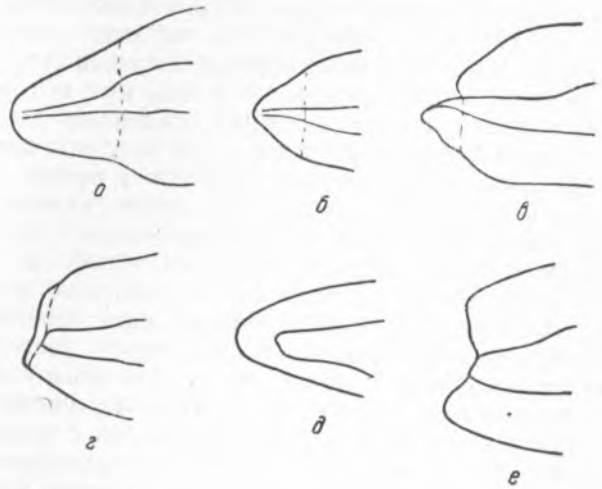


Рис. 2

103 головастика, оставшихся к концу опыта, регенерировали и конечности (рис. 1, а) и хвосты (рис. 2, а). Регенерация полностью заканчивалась на 10—12-й день после ампутации, до начала рассасывания хвоста. 16 головастика были зафиксированы на ранних стадиях для гистологического изучения.

В 4 сериях опыта 114 головастика были зафиксированы на ранних стадиях регенерации для гистологического изучения. Опыт длился до 23 дней, т. е. вдвое дольше, чем в контроле. Во всех сериях обработка колхицином приводила к замедлению метаморфоза (табл. 1).

Из приведенных данных видно, что процент смертности тем выше, чем выше концентрация колхицина и чем больше продолжительность обработки. В контроле в течение опыта гибели животных не было.

Во всех 4 сериях опыта к концу эксперимента осталось 67 головастика. В 63 случаях (94,03%) регенерировали типичные конечности (рис. 1, б), в 2 случаях (2,98%) образовались двупалые конечности и в 2 случаях (2,98%) возникли длинные недифференцированные конусы. По сравнению с контролем регенерация конечностей в опыте протекала в 1½—2 раза медленнее, но тем не менее доходила до конца. Таким образом, можно сказать, что обработка колхицином заметно

не влияет на качественный результат регенерации конечностей у головастиков.

К этим данным можно прибавить результаты дополнительной серии опыта. Головастикам Ib стадии пересаживались на спину отрезки конечностей, состоящие из бедра и голени (без ступни). Из 24 контрольных головастиков, не подвергавшихся обработке колхицином, в 20 случаях имела место полная регенерация конечностей, в 1 случае результат был неясен, в 1 случае регенерация отсутствовала и в 2 случаях трансплантаты затянулись под кожу спины. В опыте головастики сразу после пересадки конечностей в течение 135 мин. обрабатывались раствором колхицина 1:2000. Из 33 головастиков к концу опыта осталось только 2. У обоих регенерировали конечности.

В результате обработки колхицином наблюдались следующие случаи регенерации хвостов: регенерация типичных, несколько уменьшенных хвостов (рис. 2, б); частичная регенерация — образование хвоста без одного плавника (рис. 2, в); образование на ране узкой каемки тканей (рис. 2, г); регенерация только плавника без регенерации осевых органов (рис. 2, д); полное подавление регенерации и гладкое заживление раны (рис. 2, е). Результаты опыта сведены в табл. 1.

Таблица 1

Серия	Концентрация колхицина	Длительность обработки	Число животных к началу опыта	Всего осталось к концу опыта	Типичные, уменьшенные регенераты	Частичная регенерация	Регенерация узкой каемки тканей	Регенерация плавников	Подавление регенерации
C'	1:20 000	49 час.	50	15	8	1	2	3	1
C''	1:2000	180 мин.	40	4	—	—	2	—	2
C'''	1:2000	135 мин.	100	22	1	—	1	11	9
C ⁸⁰	1:80 000	232 часа за 18 суток	42	26	13	—	1	9	3
Всего	—	—	232	67	22 (32,83%)	1 (1,49%)	6 (8,96%)	23 (34,33%)	15 (22,39%)

Из табл. 1 видно, что крепкие концентрации колхицина даже при кратковременной обработке приводят к большему изменению регенерации хвостов, чем слабые концентрации при длительной обработке. Однако качественный результат регенерации — разные группы случаев — остается одинаковым при различных методиках обработки. Скорость регенерации хвостов в опыте всегда значительно меньше, чем в контроле, особенно на начальных стадиях процесса.

Основной вывод из предлагаемых данных заключается в том, что обработка колхицином больше влияет на регенерацию хвостов, чем на регенерацию конечностей. В обоих случаях под влиянием колхицина скорость регенерации органов значительно понижается, что объясняется, по всей вероятности, тем, что колхицин значительно тормозит процесс клеточного размножения. Однако, несмотря на торможение пролиферации, регенерация конечностей доходит до конца и типичные конечности образуются в 94% случаев. Регенерация же хвостов в 67% случаев сильно изменяется, причем в 22% случаев полностью подавляется. Это значит, что механика процессов регенерации конечностей и хвостов у головастиков, а по всей вероятности, и у всех амфибий, различна. Этот вывод, основанный на новых данных, в общем совпадает с подобным заключением Гюйено (1), осно-

ванным на совсем других данных. Повидимому, процессы клеточного размножения играют большую роль при регенерации хвостов, чем при регенерации конечностей. Это не должно нас особенно удивлять, потому что регенерация конечностей у молодых головастиков протекает, в значительной мере приближаясь к типу морфаллаксиса (4). Данные гистологического и цитологического исследования изучаемых нами процессов будут приведены в следующем сообщении.

Наши данные подтверждают данные Л. В. Полежаева (5) о возможности регенерации конечностей у головастиков, несмотря на колхициновую обработку, и данные Люшера (6,7) о значительном изменении регенерации хвостов у головастиков при колхициновой обработке. Противоречия в литературных данных по вопросу влияния колхицина на регенерацию зависят главным образом от того, что исследователи имели дело с разными органами, механика процесса регенерации которых различна. Наши данные показывают также, что кристаллический колхицин, приготовленный в разных местах, весьма сильно различается по своим свойствам, в частности, по своей токсичности.

Институт цитологии, гистологии
и эмбриологии
Академии Наук СССР

Поступило
26 XI 1947

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ E. Guénot, *Rev. suisse zool.*, **34** (1927). ² Э. Д. Маневич, *Усп. совр. биол.*, **20**, № 3 (1945). ³ Л. В. Полежаев, *ДАН*, **22**, № 9 (1939). ⁴ Л. В. Полежаев, *Основы механики развития позвоночных*, изд. АН СССР, 1945. ⁵ Л. В. Полежаев, *ДАН*, **43**, № 3 (1945). ⁶ M. Lüscher, *Helv. Physiol. Acta*, **4** (1946). ⁷ M. Lüscher, *Rev. suisse zool.*, **53**, № 31 (1946). ⁸ C. S. Thornton, *J. exp. Zool.*, **92**, No. 3 (1942).