

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

Г. И. ГИНЦБУРГ

**РОЛЬ ЭПИТЕЛИЯ И КОРИУМА РЕГИОНАЛЬНО РАЗЛИЧНОЙ
КОЖИ В РЕГЕНЕРАЦИИ КОНЕЧНОСТЕЙ У БЕСХВОСТЫХ
АМФИБИЙ**

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

В предыдущем сообщении (1) было показано, что кожа различных районов тела головастика регионально специфична. Эта специфичность кожи выявляется при регенерации конечностей, происходящей с участием кожи различных районов. Кожа головы подавляет регенерацию конечностей в 86% случаев и в 13% случаев приводит к атипичной регенерации. Кожа спины приводит к 60% случаев атипичной регенерации. Кожа бока и хвоста, повидимому, не изменяет сколько-нибудь заметно течение регенерации конечностей.

Цель настоящей работы — установить роль эпителия и кориума кожи при регенерации конечностей. Опыт проводился так же, как описано в предыдущем сообщении. Лишенные кожи мезодермальные ткани обрубка конечности 1 b — c стадии пересаживались под кожу на $\frac{1}{2}$ — $\frac{2}{3}$ своей длины. Оставшаяся снаружи дистальная часть трансплантата в течение суток эпителизировалась. Эта методика позволяет наблюдать регенерацию конечности, происходящую вначале при участии одного эпителия, поскольку регенерация кориума задерживается. Для гистологической обработки материал фиксировался в жидкости Цечкера с уксусной кислотой на 2, 5, 8, 15 и 25-й дни после операции. Серийные срезы окрашивались железным гематоксилином и эозином.

При пересадке мезодермальных тканей обрубков конечностей под кожу разных районов наблюдается ряд общих явлений. Эпителизация везде происходит в течение суток. Уже на 2-й день после операции на вершине трансплантата образуется многорядное разрастание эпителия в виде шапочки, которая отделяется и отпадает на 8—15-й день. Трансплантат гиперемизируется и набухает, на срезах видна картина сильного воспаления мезодермальных тканей, которые инфильтрируются лейкоцитами и другими форменными элементами крови, содержат много детрита, захватываемого специальными лейкоцитами, фагоцитами и другими клетками. Ткани значительно разрыхлены экссудатом, в них встречаются большие геморрагические очаги и кровеносные сосуды, которые еще не функционируют, находятся в состоянии стаза и начинают разрушаться. Начинается дедифференцировка мезодермальных тканей и набухание и разрушение дистальной части кориума кожи, покрывающей проксимальную часть трансплантата, которая светлеет вследствие сокращения отростков и исчезновения пигментных клеток. Мезодермальные ткани проксимальной части трансплантата, покрытые кожей, образуют плотный поверхностный слой, состоящий из 2—3 рядов вытянутых вдоль поверхности трансплантата фибробластов, с конденсированными около них коллагеновыми волокнами. Этот слой никогда не образуется при типичной регенерации не трансплантированной конечности и

является как бы оболочкой, защищающей ткани трансплантата от влияния операции и местных тканей хозяина. К 5-му дню дедифференцировка захватывает весь трансплантат, включая самые проксимальные его части. Характерно ясно выраженное разделение трансплантата на зоны: дистальную, покрытую эпителием, и проксимальную, покрытую кожей. Ткани дистальной зоны полностью дедифференцируются и представляют массу однородных клеток овальной или округлой формы с большим светлым ядром с 1—2 ядрышками. Эти клетки являются переходной формой к регенерационным клеткам, образующимся под эпителием в области ампутационной поверхности. Они отличаются от переходных клеток более правильной округлой формой, бóльшим размером и более светлым ядром с резко очерченной оболочкой и очень узкой каемкой светлой протоплазмы с 1—3 отростками. В проксимальной зоне трансплантата, покрытой кожей, всегда можно видеть остатки скелетных элементов и мышечных закладок.

Меньшая степень дедифференцировки тканей проксимальной части трансплантата, повидимому, связана с тормозящим влиянием кориума кожи на дедифференцировку. Это предположение подтверждается случаем пересадки обрубка конечности под кожу, когда ампутационная раневая поверхность трансплантата не имела контакта с эпителием. В этом случае в трансплантате не обнаруживается зон с различной степенью дедифференцировки мезодермальных тканей, и весь трансплантат на 5-й день сохраняет скелетные элементы и мышечные закладки, которые лишь немного разрыхлены. Таким образом, наличие и степень дедифференцировки тканей конечности зависят от степени их дифференцировки (7), от наличия поперечного разрушения тканей (3), от трансплантации (9) и от наличия и величины поверхности контакта эпителия с поврежденными тканями. К 8-му дню начинается редифференцировка мезодермальных тканей проксимальной части трансплантата и кориума кожи, которая ее покрывала, и дифференцировка тканей дистальной части трансплантата, покрытой эпителием. В последней появляются сгущения клеток будущих закладок скелета и мышц, которые образуются между 8-м и 15-м днем, и приблизительно одновременно начинается регенерация кориума, причем она идет очень медленно и всегда позднее, чем происходит дифференцировка основных закладок зачатка конечности. Регенерация трансплантированной конечности длится 15—20 дней, а просто ампутированной — около 10 дней. Подобное обстоятельство уже отмечалось Т. М. Яковлевой (9) и объясняется задержкой развития трансплантата за счет значительно более глубокой дедифференцировки его мезодермальных тканей. Рассмотрим теперь особенности в регенерации, протекающей при участии чужеродной кожи.

Регенерация конечности, происходящая при участии кожи бока. Эпителий, покрывающий дистальную часть трансплантата, состоит из 2—3 слоев клеток. Базальный слой его значительно отличается от базального слоя эпителия кожи бока. Первый не содержит железистых клеток, темнее окрашен, клетки его лежат плотнее, образуя правильный ряд клеток уплощенной или кубической формы на боковой поверхности трансплантата и кубической или цилиндрической на вершине. К 5-му дню базальный слой на вершине трансплантата становится темнее и выше, чем на боковой поверхности. Эти изменения эпителия, связанные с повышением его физиологической активности, можно назвать активацией эпителия, которая происходит под влиянием вначале мезодермальных тканей, находящихся в области ампутационной раневой поверхности трансплантата, а затем мезодермальной части регенерационного зачатка. Эти явления активации эпителия возрастают к 8-му дню регенерации, а затем начинают проходить: базальный слой эпителия постепенно принимает железистый характер, клетки его стано-

вятся светлее, ниже, располагаются рыхлее и свои характерные особенности активированного эпителия сохраняют лишь над недифференцированной дистальной частью зачатка. В проксимальной части трансплантата на 5-й день можно отметить частичное исчезновение защитного слоя фибробластов, который вновь образуется на 8—15-й день, а затем сливается с подкожной соединительной тканью, производным которой он, по видимому, и является. В дистальной части трансплантата, покрытой эпителием, этот слой не образуется. Начиная с 5-го дня, под эпителием, покрывающим ампутационную раневую поверхность, образуются типичные регенерационные клетки, число которых быстро возрастает. Они ориентируются перпендикулярно к поверхности эпителия, плотно соприкасаясь с ним. Одновременно начинается организация регенерационных клеток в зачатке и рост последнего. Дальнейшее течение регенерации происходит аналогично регенерации просто ампутированной конечности.

Регенерация конечности с участием кожи хвоста происходит в общем так же, как при участии кожи бока. Разница заключается в том, что в первом случае часто образуются химерные органы, состоящие из частей конечности и частей хвоста, и плавниковые выросты вследствие реактивного разрастания лофиодермы после ее травмы при операции. Кроме того, можно отметить более правильную форму клеток базального слоя эпителия, покрывающего дистальную часть трансплантата. К 5-му дню они приобретают цилиндрическую форму не только на вершине, но и на боковой поверхности трансплантата.

Регенерация конечности, протекающая при участии кожи головы, с первых дней заметно отличается от регенерации конечности, происходящей с участием кожи бока. Эпителий, покрывающий дистальную часть трансплантата, уже ко 2-му дню имеет железистый характер. Среди кубических и цилиндрических клеток его базального слоя встречаются клетки неправильной формы. Это свидетельствует о недостаточной активации эпителия. Уплотненный защитный слой фибробластов образуется не только на поверхности тканей проксимальной части трансплантата, покрытых кожей, но и в дистальной части, покрывая даже ампутационную раневую поверхность, причем фибробласты лежат параллельно поверхности эпителия, а не перпендикулярно к ней и не образуют типичной связи с эпителием. Среди массы переходных клеток, находящихся в дистальной, подэпителиальной части трансплантата, образуется довольно мало типичных регенерационных клеток и их число заметно не увеличивается даже к 8-му дню. Ориентации их перпендикулярно к поверхности эпителия и организации в зачаток не происходит. Начинаясь на 8-й день редифференцировка тканей проксимальной части трансплантата идет и в дистальной, подэпителиальной его части, а небольшое скопление регенерационных клеток образует своеобразную подушку, покрывающую дистальные концы редифференцирующихся костей голени. В дальнейшем это скопление клеток не развивается и покрывается молодой кожей. Таким образом, несмотря на отсутствие кориума, типичной связи эпителия с тканями регенерата не возникает. Эпителий не активируется типичным образом и накопления достаточного количества регенерационных клеток, их характерной ориентации и организации в зачаток и дальнейшего роста и дифференцировки зачатка не происходит. По видимому, эпителий кожи головы, как правило, не способен активироваться и принимать участие в регенерации конечности.

Регенерация конечности, протекающая при участии кожи спины, сходна с регенерацией, происходящей при участии кожи головы, но отличается от последней временным исчезновением на 2—5-й день защитного поверхностного слоя фибробластов на

вершине трансплантата, повидимому, в связи с его дедифференцировкой и образованием довольно большого числа регенерационных клеток под эпителием. Однако последние далеко не всегда приобретают характерную ориентацию перпендикулярно к поверхности эпителия. Весь зачаток (бластема, конус) имеет атипичную узкую или неправильную форму. Организация клеток в зачатке также происходит атипично и приводит к большому проценту случаев регенерации атипичных конечностей. Приведенные данные противоречат мнению О. Г. Гольцман (2) о том, что торможение регенерации конечности чужеродной кожей обусловлено отсутствием кориума кожи конечности, а не влиянием чужеродного эпителия. С нашими данными согласуются данные Вейсса (8), который показал, что конечности могут регенерировать при отсутствии кориума кожи конечности. Из работ Л. В. Полежаева (5-7) также следует, что активная роль в регенерации принадлежит эпителию, а не кориуму.

Из полученных данных следует, что кориум регионально различной кожи не принимает активного участия в регенерации конечности и повидимому, как и другие мезодермальные ткани, тормозит их дедифференцировку. Однако он сам вовлекается в процессы дедифференцировки и разрушения, но несколько позднее внутренних мезодермальных тканей конечности. Редифференцировка кориума происходит синхронно с редифференцировкой подлежащих тканей, а его регенерация начинается на 8—15-й день и происходит всегда позднее, чем дифференцировка тканей зачатка конечности. Наличие бластемы с недифференцированным клеточным материалом тормозит регенерацию кориума. Региональная специфичность кориума при данной постановке опыта не обнаруживается. Весь процесс регенерации конечности с момента ее эпителизации и до образования основных гистологических закладок происходит только под эпителием без участия кориума. Эпителий необходим для регенерации конечности и играет при этом активную роль. Это заключение соответствует данным М. И. Ефимова (3) и Л. В. Полежаева (5, 6). Эпителий регионально специфичен, но обладает рядом общих свойств. Так, эпителий различных районов кожи головастика способен гистологизировать подлежащие ткани и стимулировать их дедифференцировку. Эпителий кожи конечности, бока, хвоста и частично спины может обуславливать образование и накопление регенерационных клеток, их ориентацию и организацию в типичный зачаток. Стимулируя митотическую активность в зачатке, эпителий способствует его росту, а в дальнейшем, повидимому, стимулирует гистологическую дифференцировку зачатка. Эти свойства эпителия изменяются соответственно определенной региональности и одновременно градиенту, а также с возрастом дифференцирующейся кожи у бесхвостых амфибий. Градиентные изменения в способности эпителия активироваться и принимать участие в регенерации конечности падают в направлении от хвоста к голове и от живота к спине. В указанном отношении наименее дифференцирован эпителий кожи конечности, бока, хвоста и живота, наиболее — эпителий кожи головы, который не способен участвовать в регенерации конечности.

Институт цитологии, гистологии и эмбриологии
Академии Наук СССР

Поступило
26 XI 1947

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Г. И. Гинцбург, ДАН, 58, № 2 (1947). ² О. Г. Гольцман, Бюлл. эксп. биол. и мед., 8, № 6 (1939). ³ М. И. Ефимов, Журн. эксп. биол., 7, № 3 (1931). ⁴ М. И. Ефимов, Биол. журн., 2, № 2—3 (1933). ⁵ L. W. Polezajew unter Beteiligung von W. N. Faworina, Roux'Arch., 133 (1935). ⁶ Л. В. Полежаев, Зоол. журн., 15, № 2 (1936). ⁷ Л. В. Полежаев, ДАН, 25, № 6 (1939). ⁸ P. Weiss, Roux' Arch., 109 (1927). ⁹ Т. М. Яковлева, Биол. журн., 7, № 3 (1938).