

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

Л. В. ПОЛЕЖАЕВ и Г. П. РАМЕНСКАЯ

**РЕГЕНЕРАЦИЯ КОНЕЧНОСТЕЙ У ЖЕРЛЯНОК, ВЫЗВАННАЯ
ПРОДУКТАМИ ГИДРОЛИЗА ХРЯЩА**

(Представлено академиком К. И. Скрябиным 31 X 1949)

Регенерация органов у животных есть явление развития. Поэтому исследование регенерации, как и всякого процесса развития, требует исторического подхода, который мы усматриваем прежде всего:

1) В сравнительном методе, когда мы изучаем и сравниваем регенерацию в ряду животных, способных к регенерации определенных органов (например, конечностей) в течение всей жизни (хвостатые амфибии, рыбы и др.), животных, утрачивающих эту способность в онтогенезе (например, бесхвостые амфибии), и животных, не способных к регенерации тех же органов в онтогенезе (например, млекопитающих).

2) В применении к регенерации так называемого биогенетического закона, когда мы рассматриваем закономерное изменение (утрату) регенерационной способности органа (например, конечности) в онтогенезе у животных переходной группы (например, лягушек, жерлянок) как видоизмененное отражение в нем филогенетического изменения регенерационной способности данного же органа. Из сказанного ясно, какое большое значение имеет исследование закономерностей регенерации у животных переходной группы.

А. Вейсман (1) рассматривал регенерационную способность только как приспособление, Т. Морган (4) — только как первичное свойство живого, причем оба исследователя противопоставляли приспособление и первичное свойство живого как несовместимые. Этот схоластический спор не был разрешен до настоящего времени. Мы противопоставляем указанным ошибочным представлениям наше, рассматривая регенерационную способность как одну из форм воспроизведения живой материей самой себя, т. е. как первичное свойство живого, и одновременно как приспособление живого к изменяющимся условиям существования, причем оба эти свойства вытекают из одного основного свойства живого — обмена веществ. Наше представление по существу совпадает с представлением Ч. Дарвина (2) на сущность регенерации, отличаясь от него тем, что Дарвин не указывал на основное свойство живого, из которого вытекает способность к регенерации, а мы указываем, что таковым свойством является обмен веществ. Наше представление имеет не отвлеченный интерес, но позволяет конкретно подойти к ряду теоретических и практических вопросов, изменяя течение регенерации через изменение обмена веществ всей особи или преимущественно одного какого-либо ее органа.

В наших предыдущих исследованиях (7) было сделано основное обобщение, что необходимой важнейшей начальной стадией регенерации

является разрушение и дедифференцировка поврежденных тканей остатка органа. При утрате регенерационной способности конечностей у позвоночных в онтогенезе и филогенезе эта стадия практически выпадает, редуцируясь до минимума. Искусственное восстановление ее приводит к регенерации конечностей у лягушек. Это восстановление в конечном счете происходит за счет изменения обмена веществ в искусственно повреждаемом органе. В последнее время нам удалось показать, что у жерлянок при ампутации на дистальном уровне конечности могут регенерировать, если в культе остается хрящевой скелет; если же последний удалить или заменить костью проксимальной части конечности, то рана гладко заживает⁽⁶⁾. У хвостатых амфибий бесконечность конечности может, а у бесхвостых амфибий не может регенерировать. Следовательно, в ходе эволюции значение скелета для регенерации органа изменяется. У бесхвостых амфибий при регенерации скелет играет роль не чисто механического фактора, растягивающего ткани, и не только как один из источников регенерационного материала. Разрушаясь, он побуждает соседние ткани к регенерации. Если эта способность у него исчезает, то он перестает оказывать стимулирующее влияние на окружающие ткани.

Это наше предположение о роли скелета при регенерации конечностей у животных переходной группы хорошо согласуется с данными Н. В. Насонова⁽⁵⁾ о том, что хрящ, вложенный под кожу конечности у аксолотля, разрушает окружающие ткани и приводит к образованию добавочных органов. Н. Д. Зелинский⁽³⁾ и Д. М. Федотов⁽⁸⁾ продолжили опыты Насонова и показали, что тот же результат можно получить путем вложения хряща, гидролизованного неорганическими кислотами и (хуже) ферментативным путем.

Задача настоящей работы состояла в том, чтобы гидролизировать хрящ конечностей жерлянки (*Bombina bombina*) и, воздействуя им на ткани ампутированной и нерегенерирующей конечности животного этого вида, вызвать в них распад, а затем регенерацию.

Регенерационная способность у бесхвостых амфибий на дистальных уровнях конечности выше, чем на проксимальных. Поэтому эпифизарные хрящи конечностей взрослых жерлянок брались отдельно из проксимальных и дистальных районов, а приготовленные из них препараты мы будем называть гидролизатами дистальных и проксимальных хрящей. В одной серии были приготовлены гидролизаты смешанных дистальных и проксимальных хрящей конечности озерной лягушки (*Rana ridibunda*). В опытах Н. Д. Зелинского⁽³⁾ и Д. М. Федотова⁽⁸⁾ лучший результат был получен с хрящом аксолотля, гидролизированным муравьиной и соляной кислотой, но гидролиз длился более 3 лет (!). Мы проводили ферментативный гидролиз размолотого хряща трипсином в условиях фосфатного буфера с $\text{pH} = 8,0$ или гликоколового буфера с $\text{pH} = 8,5$. Гидролиз велся в течение 2—15 суток при температуре 37° . Степень гидролитического расщепления определялась титрованием аминокислот по Зеренсену и Гаврилову. Для титрования брался $0,2 \text{ N NaOH}$. В опыте с хрящом жерлянки до гидролиза на титрование пошло $0,10$ мл едкого натрия, после 2 суток гидролиза $0,38$ мл, после 15 суток $0,58$ мл. В опыте с хрящом лягушки до гидролиза на титрование пошло $0,35$ мл едкого натрия, после 2 суток гидролиза $1,79$ мл, после 5 суток $1,80$ мл. Гидролизаты подсушивались в вакууме при комнатной температуре до густой мазеобразной консистенции. Однако в таком виде их вкладывать под эпителий раны было нельзя, так как они быстро растворялись в тканевом соке. Поэтому их пришлось смешать с $12\text{--}20\text{--}25\%$ желатиной. Как антисептическое средство к ним добавлялся тимол. Гидролизат хряща лягушки был высушен досуха, вследствие чего желатину к нему прибавлять не потребовалось.

Для контроля были проведены опыты на аксолотлях. У них в коже тыльной стороны на кистях и ступнях вырезались «окошечки» 4×4 мм,

а через 4—14 дней после этого под эпителий или молодую регенерировавшую кожу вкладывались 2-дневные гидролизаты проксимальных и дистальных хрящей жерлянки, приготовленные на желатине. Всего было проведено 118 операций. Однако они были неудачны: в большинстве случаев желатина быстро разбухала, разрывала кожу и гидролизат выпадал из раны. В остальных случаях добавочные образования также не развились. Это указывает на то, что наши гидролизаты были недостаточно активны.

У взрослых жерлянок ампутировались правые передние конечности на уровне дистальной части предплечья, причем обращалось внимание на то, чтобы в культе не оставался эпифизарный хрящ. Для того чтобы предотвратить затягивание раневой поверхности старой кожей, края ее в виде манжетки срезались на культе, благодаря чему рана становилась широкой. Затем часть животных (14 экз.) оставлялась для контроля, а остальным 76 животным через 8 или 12 дней после ампутации под эпителиальную пленку на ране или под кожу сбоку от раны вкладывались кусочки гидролизатов. В 46 случаях это были заключенные в желатину 2- и 15-дневные гидролизаты дистальных и проксимальных хрящей жерлянки, в 15 случаях 2-дневные гидролизаты хрящей (дистальных и проксимальных вместе) конечности озерной лягушки, а в 15 случаях — кусочки негидролизованного хряща, взятого из эпифизов скелета конечности аксолотля.

Опыт длился от 3 до 12 мес. В контроле у половины жерлянок рана гладко заживала, покрываясь молодой кожей, а в другой половине на них возникали небольшие хрящевые разрастания. В опыте из 76 животных к концу осталось 72. У них наблюдалась такая же картина, как и в контроле, но, кроме того, в 11 случаях (15,3%) происходила регенерация атипичных конечностей, имеющих форму лопаточки, или длинных выростов, расположенных над местами вложения гидролизатов. Сравнительно невысокий процент регенерации объясняется двумя обстоятельствами: 1) тем, что в ряде случаев гидролизаты выбрасывались вследствие разбухания желатины, в которую они были заключены, и разрыва эпителия раневой поверхности, и 2) недостаточно высокой активностью гидролизатов, приготовленных указанным выше способом. Тем не менее даже при этих обстоятельствах действие гидролизатов, приводящее к регенерации атипичных органов, в ряде случаев было обнаружено. В других случаях оно также проявлялось, но уже в другой форме, в виде стимуляции развития хрящевой мозоли вокруг обрезанной кости культы, иногда прямо гигантски раздувающейся. Стимуляция развития мозоли происходила под влиянием любых гидролизатов или нативного хряща. Образование регенератов, как правило, шло без значительного развития мозоли, культя конечности заметно не утолщалась. Этот процесс лучше всего шел под влиянием нежелатинизированного гидролизата хряща лягушки (5 случаев регенерации из 15), затем желатинизированных гидролизатов дистальных хрящей жерлянки (5 случаев из 23), слабее всего под влиянием желатинизированных гидролизатов проксимальных хрящей жерлянки (1 случай из 23) и вовсе не протекал под влиянием нативного хряща аксолотля (ни одного случая из 14).

В настоящее время мы можем предполагать, что большая активность гидролизатов хряща лягушки, чем гидролизатов хряща жерлянки, зависела не от их видовой специфичности, а от способа их приготовления.

Две группы случаев — развитие хрящевой мозоли или регенерация атипичной конечности — объясняются, повидимому, разными условиями при действии гидролизатов или нативного хряща или разным состоянием тканей органа.

Теоретическое значение предлагаемых данных состоит в том, что они показывают, что продукты гидролиза хряща обладают способностью

разрушать и изменять ткани нерегенерирующего органа и что он приобретает способность к известной регенерации. Другими словами, они подтверждают нашу концепцию о важном и необходимом значении начальной стадии регенерации — фазы разрушения и дедифференцировки тканей.

Институт морфологии животных
им. А. Н. Северцова
Академии наук СССР

Поступило
15 X 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ А. Вейсман, Лекции по эволюционной теории, 1905. ² Ч. Дарвин, Прирученные животные и возделанные растения, СПб., 1900. ³ Н. Д. Зелинский, Журн. общ. биол., 7, № 3 (1946). ⁴ Т. Н. Morgan, Regeneration, Leipzig, 1907. ⁵ Н. В. Насонов, Добавочные образования, развивающиеся при вложении хряща под кожу взрослых хвостатых амфибий, изд. АН СССР, 1941. ⁶ Л. В. Полежаев, ДАН, 57, № 9 (1947); 59, № 4 (1948). ⁷ Л. В. Полежаев, Тр. Ин-та цитол., гистол. и эмбр. АН СССР, 2, в. 2 (1948). ⁸ Д. М. Федотов, ДАН, 38, № 1 (1943).