

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

Н. Ф. БАРАКИНА

**РАСПРЕДЕЛЕНИЕ РИБОНУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ
ПРИ РЕГЕНЕРАЦИИ, НАСТУПАЮЩЕЙ ПОСЛЕ
АМПУТАЦИИ КОНЕЧНОСТЕЙ У БЕСХВОСТЫХ
АМФИБИЙ**

(Представлено академиком А. И. Опариным 13 IX 1951)

Как известно, бесхвостые амфибии являются такой группой животных, у которых способность к регенерации конечностей утрачивается в процессе онтогенеза. Головастики на II стадии метаморфоза (по схеме Бляхера (1)) уже не восстанавливают ампутированную конечность, а происходит гладкое заживление культи.

Иде-Розас (4) на основании цитологического изучения ампутированных и регенерирующих конечностей у головастиков ранних стадий развития показал, что регенерационные клетки образуются путем превращения клеток различных тканей остатка органа; при этом они образуются только до II стадии метаморфоза, а позже образовываться не могут, ибо, как он полагает, они теряют способность к делению. Л. В. Полежаев (3) экспериментальным и гистологическим путем показал, что регенерационная способность конечностей у головастиков утрачивается в процессе их метаморфоза в связи с тем, что ткани конечностей теряют способность к разрушению и дедифференцировке, вследствие чего в области раны не образуется достаточного количества регенерационного материала и культи гладко заживет. Клетки в регенерационной бластеме регенерирующих конечностей возникают не путем митотического деления, а за счет разрушения и дедифференцировки старых тканей.

В предлагаемой работе ставится задача показать распределение рибонуклеиновой кислоты в тканях конечности у животных, которые в течение своего онтогенеза теряют способность к регенерации органа.

Материалом для исследования служили головастики *Rana temporaria*, у которых задние конечности ампутировались в проксимальной части голени. Было поставлено две серии опытов. В первой серии брались головастики на Ib стадии метаморфоза, когда после ампутации конечности у них восстанавливаются в 100% случаев в течение 10—15 дней. Во второй серии опытов брались головастики на IIIa стадии метаморфоза, когда ампутированные конечности не восстанавливаются и культи гладко заживают. Регенерирующие конечности фиксировались в жидкости Гелли на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 12, 15-е сутки после ампутации. Срезы красились метиловым зеленым и пиронином по Унна. Рибонуклеиновая кислота выявлялась по методу Браше.

Морфологическая картина задней конечности на Ib стадии такова. Кожа состоит из 2—3 слоев эпителиальных клеток, базальный слой представлен клетками кубической формы. Кориум тонкий с небольшим количеством клеточных элементов. Диафизы скелетных элементов со-

стоят из хряща, а эпифизы из прохондральных сгущений. Клетки надхрящницы у эпифизов имеют округлую форму, а окружающие диафиз вытянуты и веретеновидные. Мышечная ткань представлена пучками миобластических клеток овальной или вытянутой формы.

После ампутации конечности в первые сутки раневая поверхность закрывается эпителием. Под эпителием находятся кровяные элементы, обломки тканей и клеток. Видны признаки разрушения хряща, выражающиеся в резорбции промежуточного вещества, а также гибели некоторых хрящевых клеток. Мышечные закладки распадаются на отдельные клеточные элементы. На вторые сутки под эпителием появляются скопления клеток «промежуточного» типа, которые в основном образуются за счет дедифференцированных элементов всех тканей остатка органа.

На 3-и сутки после ампутации возникают типичные регенерационные клетки. Морфологически они сходны с клетками эмбриональной мезенхимы головастиков. В остатке органа продолжается дедифференцировка тканей, и поток дедифференцированных клеток движется к месту образования бластемы. Процесс дедифференцировки длится до 8—10-го дня и наиболее интенсивно выражен в период от 2-го до 7-го дня после ампутации. К 10-м суткам в бластеме хорошо выражена дифференцировка скелетных элементов. К 12-му дню обособляются мышечные закладки в виде пакетов из клеток миобластического типа. Дифференцировка проксимальной части конечности также продолжается, но несколько отстает от таковой другой парной конечности. В бедре хорошо развит окостеневающий скелет, мышечная ткань сформирована в волокна. В коже развиты железы.

На Ib стадии метаморфоза рибонуклеиновой кислоты богаты почти все ткани конечности. Трудно судить о степени базофилии той или иной ткани, ибо они все ярко окрашены пиронином. Только клетки рыхлой соединительной ткани сравнительно мало базофильны. После ампутации также трудно проследить изменения в концентрации рибонуклеиновой кислоты. Можно только сказать, что все клетки, освобождаясь из тканевых связей и направляющиеся к месту образования будущей бластемы, резко базофильны. Увеличение концентрации рибонуклеиновой кислоты можно хорошо проследить на клетках соединительной ткани. Последние в зоне регенерации резко повышают свою базофилию по сравнению с соединительнотканью клетками, расположенными в проксимальной части органа.

Бластемные клетки также содержат большое количество рибонуклеиновой кислоты. К началу дифференцировки бластемы продуцирование в клетках кислоты усиливается. К моменту полной регенерации конечности в дистальной ее части распределение рибонуклеиновой кислоты приблизительно такое же, как и на Ib стадии. В проксимальной части конечности рибонуклеиновая кислота содержится в большой концентрации в клетках эпителия, надкостнице и хрящевых клетках в эпифизарных частях скелета. В мышечных волокнах рибонуклеиновая кислота располагается небольшими участками около ядер, а также по краям волокна.

Морфологическая картина задней конечности на IIIa стадии метаморфоза такова. Почти во всем эпидермисе хорошо развиты железы. Скелет представлен костной тканью и только в эпифизах — хрящевой. Мышечная ткань выполняет большую часть пространства между скелетом и кожей. Почти на всем протяжении органа мышцы дифференцированы в волокна с хорошо выраженной поперечной исчерченностью. После ампутации конечности рана эпителизируется через сутки; эпителий, покрывающий рану, значительно утолщен.

В подэпителиальных тканях в течение 3—4 дней происходят воспалительные процессы. Ткани набухают, инфильтрируются форменными зернистыми и незернистыми элементами крови. Начиная со вторых су-

ток, в очаге воспаления находится много макрофагов, которые фагоцитируют обломки клеток и остатки погибших лейкоцитов. С 3-го дня после ампутации начинают появляться клетки фибробластического типа. Эти клетки имеют веретеновидную, вытянутую форму. Располагаются они параллельными рядами между эпителием и остатком органа. Количество этих клеток быстро нарастает, между ними образуется промежуточное вещество и волокнистая субстанция. Происходит гладкое заживление культи с образованием рубцовой ткани между эпителием и остатком органа.

Рибонуклеиновая кислота на IIIа стадии метаморфоза в конечности головастика содержится в большой концентрации в клетках надкостницы, эпидермисе, в клетках хряща эпифизарных частей скелета. В мышечной ткани рибонуклеиновая кислота в виде мельчайшей зернистости располагается небольшими участками около ядер, а также по краю волокна. В клетках соединительной ткани базофилия слабо выражена.

В первый день после ампутации степень базофилии тканей остается той же. Начиная со второго дня, все соединительнотканнные элементы в области раны становятся базофильными. В большой концентрации рибонуклеиновая кислота содержится в клетках рубцовой ткани. К концу опыта, т. е. к 15-му дню, базофильными остаются клетки эпидермиса, надкостницы и значительно менее базофильны клетки рубцовой ткани. В клетках других тканей на протяжении всего органа рибонуклеиновая кислота не выявляется.

Две стадии регенерации — стадию разрушения и дедифференцировки и стадию роста и дифференцировки — у головастика на стадии Ib метаморфоза так же хорошо можно проследить, как и у аксолотля⁽²⁾, хотя протекают они у головастика несколько иначе, чем у аксолотля. Во-первых, вследствие быстрого накопления регенерационного материала эти стадии у головастика отграничены друг от друга значительно резче, чем у аксолотля, нет длительного нахождения их друг на друга, как у аксолотля. Во-вторых, весь процесс регенерации и, в частности, обе его стадии у головастика протекают значительно быстрее, чем у аксолотля, так как ткани у них находятся в самом начальном периоде дифференцировки.

Общим для головастика на стадии Ib метаморфоза и аксолотлей является то, что у обоих видов стадия разрушения и дедифференцировки хорошо выражена и протекает сравнительно продолжительное время во всем процессе регенерации. Накопление регенерационного материала в обоих случаях идет, вероятно, за счет дедифференцировки всех тканей остатка органа.

Если сравнить распределение рибонуклеиновой кислоты в процессе регенерации конечности у аксолотля и у головастика на Ib стадии метаморфоза, то можно установить известную закономерность. И у головастика и у аксолотля наблюдается большая концентрация рибонуклеиновой кислоты в клетках «промежуточного» типа и в регенерационных клетках. При начале дифференцировки blastемы количество рибонуклеиновой кислоты несколько увеличивается как в клетках аксолотля, так и головастика. К концу регенерации у аксолотля рибонуклеиновая кислота вырабатывается клетками эпителия, хряща и надхрящницы, у головастика же к моменту полной регенерации, кроме указанных тканей, базофильны небольшие участки мышечных волокон. Однако нужно отметить, что в процессах накопления рибонуклеиновой кислоты у аксолотля и головастика имеются некоторые различия. В первые дни после ампутации у аксолотля в течение 3—4 дней базофильными остаются только клетки эпителия, надхрящницы и хряща, и только позднее способность вырабатывать рибонуклеиновую кислоту приобретают клетки других тканей. У головастика же на стадии Ib рибонуклеиновая кислота в большой концентрации содержится во всех тканях конечности.

Следовательно, ткани головастиков как бы более подготовлены к дальнейшей перестройке в направлении дедифференцировки и к продуцированию рибонуклеиновой кислоты. Все это указывает, что процессы накопления рибонуклеиновой кислоты при регенерации у аксолотлей и головастиков на стадии Ib (особенно в первой ее стадии) идут сходно, но не тождественно.

На IIIa стадии метаморфоза у головастиков регенерации конечности не происходит. Разрушительные процессы в тканях очень незначительны и идут короткое время; дедифференцировка тканей совершенно отсутствует. Следовательно, первая стадия регенерации у головастиков IIIa стадии сокращается до минимума, т. е. практически совсем выпадает. Накопление регенерационного материала, идущее здесь за счет соединительной ткани, не достигает такого количества, которое бы могло перейти в новое качество — регенерационную бластему.

Распределение рибонуклеиновой кислоты при регенерации у головастиков на стадии IIIa по сравнению с головастиками на стадии Ib и аксолотлем резко изменяется. После ампутации конечности не происходит дедифференцировки клеток и перестройки их в направлении продуцирования рибонуклеиновой кислоты. К дедифференцировке на этой стадии метаморфоза способна только рыхлая соединительная ткань и, действительно, мы видим накопление в области раны базофильных соединительнотканых клеток, которые в дальнейшем образуют рубец.

Способность всех клеток остатка органа к продуцированию рибонуклеиновой кислоты, повидимому, является одним из условий дальнейшей регенерации.

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

Поступило
21 VII 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Л. Я. Бляхер, Тр. Лабор. эксп. биол. Моск. зоопарка, 4 (1928).
² Н. Ф. Баракина, ДАН, 79, № 6 (1951). ³ Л. В. Полежаев, Журн. общ. биол., 11, 4 (1950). ⁴ A. Ide-Rozas, Wilhelm Roux' Arch., 135, 552 (1936).