

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

И. Г. РОГАЛЬ

**СТИМУЛЯЦИЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ПРИ РЕГЕНЕРАЦИИ
КОНЕЧНОСТЕЙ У ЖЕРЛЯНОК**

(Представлено академиком А. И. Абрикосовым 13 X 1951)

Способность к регенерации конечностей хорошо развита у низших позвоночных животных. С повышением организации в филогенезе она исчезает. У бесхвостых амфибий типично идет регенерация только на ранних этапах личиночного развития. У промежуточной группы, жерлянок, атипичная регенерация конечностей отмечается и на более поздних стадиях и даже у взрослых особей. При потере или ампутации кисти лапы у жерлянок вместо четырехпалой передней конечности образуется регенерат с одним, реже с двумя пальцевидными атипичными выростами, чем и заканчивается рост новообразования. Неясно, почему начавшаяся регенерация при этом прекращается и происходит образование атипичной конечности, в то время как у хвостатых амфибий (аксолотль, тритон) образуется полноценная лапа.

В настоящее время большинством исследователей принимается, что репаративная регенерация протекает двухфазно (1, 2). Первая фаза регенерационного процесса является фазой разрушения и дедифференцировки тканей остатка органа, что ведет к потере морфологического различия тканевых структур. Она обеспечивает материалом вторую фазу — дифференцировки и роста. Чем сильнее выражена первая фаза в онто- и филогенезе, тем полнее и интенсивнее развита вторая фаза роста регенерационного зачатка. Первая фаза характеризуется упрощением морфологических структур и быстрыми изменениями белкового обмена веществ в сторону усиления распада, углеводного обмена и т. п. Во второй фазе, наоборот, преобладает синтез белков, усиливаются аэробные окислительные процессы и др. Регулируя первую фазу — фазу распада и дедифференцировки, можно менять в нужную сторону и вторую фазу регенерационного процесса — фазу дифференцировки и роста.

В указанной гипотезе не учитывается формативное влияние внешней среды, и весь процесс регенераций связывается с внутрискелетными преобразованиями.

Исходя из двухфазного протекания репаративной регенерации, мы рассматриваем регенерацию как приспособительную форму самовоспроизведения, регулируемую агентами внешней среды. Нам кажется, что степень и форма репаративной регенерации органов определяются внешними условиями не в меньшей степени, чем внутренними внутрискелетными формативными процессами. В связи с этим необходимо было экспериментально решить вопрос о зависимости течения регенерационных процессов у бесхвостых амфибий от воздействия внешних факторов среды и показать возможность управления регенерационными процессами.

В настоящей работе мы поставили себе целью доказать, что внутриформативные процессы недостаточны для получения полноценной регенерации: последняя зависит не в меньшей степени от влияния внешней среды.

В качестве регулятора регенерационных процессов мы применили лучистые раздражители, играющие исключительную роль в жизни животных, в частности амфибий. Большой интерес представляет выяснение физиологических особенностей различных этапов регенерационного процесса, в частности фазы дедифференцировки и разрушения. Нас интересовал вопрос, почему прекращается дифференцировка новообразовавшихся атипичных пальцевидных выростов конечностей у жерлянок, а также вопрос о возможности управления этими процессами с целью получения более полноценной регенерации органов.

Задачей данного исследования было воздействовать на первую стадию регенерационного процесса — стадию разрушения и дедифференцировки — лучистыми агентами с целью направленного регулирования процессов регенерации конечностей у жерлянок. На основе анализа развития процессов регенерации органов у низших позвоночных животных в дальнейшем можно было бы подойти к созданию условий, которые обеспечили бы восстановление способности регенерации органов у млекопитающих животных.

Поскольку в солнечном спектре биологически наиболее активной является коротковолновая ультрафиолетовая область, мы и использовали этот участок спектра с целью управления регенерационными процессами. Изучалось действие длинноволновых у.-ф. лучей, в различных дозировках и экспозициях, вызывающих у разных животных, как известно, сдвиги в тканевом белковом обмене, в частности усиление протеолитических процессов в коже. Наряду с этим выяснялось также влияние коротковолновых у.-ф. лучей, обычно поглощающихся верхними слоями атмосферы и не доходящих до поверхности земли, но при определенных условиях опыта вызывающих стойкие изменения различных функций в животном организме, в частности сильно раздражающих рецепторный аппарат кожи и повышающих возбудимость центральной нервной системы (3).

Опыты были поставлены на взрослых жерлянках *Bombina bombina*, которые собирались из прудов в окрестностях Кропотовской биостанции; у них ампутировались обычно правые передние лапы, иногда и левые. Уровень ампутации — район кисти. После ампутации животные сразу же подвергались облучению ртутно-кварцевой лампой ПАРК-2. Интенсивность излучения длинноволновых и коротковолновых лучей равнялась 3200 эрг/см^2 . Дозировка определялась изменением времени облучения. Энергия излучения контролировалась и измерялась в абсолютных единицах.

Всего под опытами было 55 жерлянок в I серии и 75 во II серии опытов. Каждая серия подразделялась поровну на 5 вариантов (по 11 животных в каждом варианте I серии и по 15 во II серии), а именно: 1 — контроль; 2 — облучение длинноволновыми у.-ф. лучами 5 мин. в сеанс ($9,6 \cdot 10^5 \text{ эрг/см}^2$); 3 — то же 45 мин. в сеанс ($8,64 \cdot 10^4 \text{ эрг/см}^2$); 4 — облучение коротковолновыми у.-ф. лучами 5 мин. в сеанс ($9,6 \cdot 10^5 \text{ эрг/см}^2$); 5 — то же 45 мин. в сеанс ($8,64 \cdot 10^6 \text{ эрг/см}^2$).

Длинноволновые у.-ф. лучи выделялись по принятому нами способу путем фильтрации их ацетилцеллюлозными пленками. Коротковолновые у.-ф. лучи выделялись изменением режима горения ртутно-кварцевой горелки ПАРК-2, при этом лампа работала на так называемом «холодном» режиме горения при 25 в и 2,5 а.

Наблюдая за течением регенерационного процесса в течение 6 мес. в I серии опытов и в течение 5 мес. во II серии, мы убедились в том, что в зависимости от участка спектра, дозировки лучистой энергии и

от количества сеансов облучения результат действия у.-ф. лучей различен. Девятикратные облучения длинноволновыми у.-ф. лучами во всех случаях дают ярко выраженное торможение регенерационных процессов у жерлянок, пальцевидные новообразования которых ничем существенным не отличаются от таковых контрольных жерлянок.

Иные результаты получены у жерлянок, облученных двукратно теми же дозами у.-ф. лучей. Двукратное облучение длинноволновыми у.-ф. лучами дало ярко выраженное усиление роста и полную дифференцировку регенерата. Особенно четкий и наглядный результат получен от 45-минутных облучений. У соответственной группы жерлянок к 4 мес. ампутированные кисти приобретают близкий к нормальным конечностям вид, а образующиеся пальцевидные выросты достигают почти нормального размера. Двукратные облучения малыми дозами длинноволновых у.-ф. лучей (5-минутные облучения), так же как и коротковолновые у.-ф. лучи при двукратных облучениях большими (45-минутными) дозами, стимулируют рост и дифференцировку регенерационной бластемы и приводят к образованию конечности со стопой, напоминающей нормальную стопу.

У контрольных животных I и II серий к 5—6 мес. возникающие и развивающиеся регенераты ни в одном случае не имели выростов нормальной пальцевидной формы. Регенераты имели по 1—2 пальцевидных отростка уродливой формы. В большинстве же случаев они к этому времени достигали только стадии бластемы или лопаточки. Во всех группах I и II серии у животных, облучавшихся 9-кратно, получены регенераты, ничем не отличавшиеся от таковых у контрольных животных.

У жерлянок, облучавшихся двукратно длинноволновыми у.-ф. лучами и в меньшей степени у облучавшихся коротковолновыми лучами, мы наблюдали развитие регенератов, приближающихся к нормальной четырехпалой кисти. Такая лапа на 5-м мес. своего развития приближается по величине и форме к парной неампутированной конечности. В нескольких опытах и коротковолновые у.-ф. лучи давали усиление дифференцировки. Однако при облучении коротковолновыми у.-ф. лучами мы не наблюдали столь полной и полноценной дифференцировки четырехпалой кисти лап. К концу опытов в I серии выжило 8 контрольных жерлянок, а среди облучавшихся 19 жерлянок. У последних регенераты ничем не отличались от таковых у контрольных животных. Во II серии опытов к концу 5-го мес. выжило в контрольной группе 4 жерлянки, а в опытной 27 жерлянок. У всех двукратно облученных жерлянок рост и дифференцировка новообразований были значительно лучше выражены, чем у контрольных животных обеих серий опытов (см. рис. 1 и 2). Наши данные совпадают с наблюдениями Е. Толмачевой-Мельниченко (4), отмечавшей торможение регенерационного процесса при многократных облучениях всем спектром ртутно-кварцевой лампы; но в отличие от этих данных мы получили положительное стимулирующее влияние двукратных облучений на полноценность и дифференцировку регенерации.

Как же объяснить стимуляцию дифференцировки регенератов у.-ф. лучами? Здесь мы можем полностью согласиться с мнением Д. П. Филатова (5), что усиление роста приводит и к ускорению дифференци-

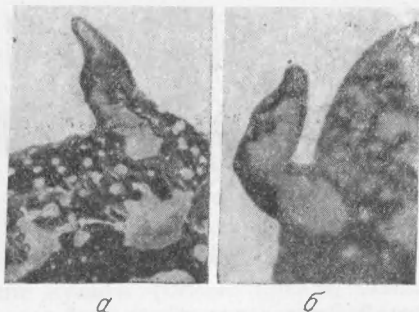


Рис. 1. Регенерация недифференцированного выроста после ампутации кисти у жерлянок: а — в контроле, без воздействия; б — 9-кратно облученных длинноволновыми у.-ф. лучами 45 мин. в сеанс

ровки регенерационного зачатка. Под влиянием длинноволновых у.-ф. лучей при двукратном облучении усилились явления разрушения и дифференцировки в области раневого очага. Проникая на большую глубину, длинноволновые у.-ф. лучи вызвали усиление обменных процессов, в частности белкового обмена⁽³⁾. Очевидно, как в области раны, так и в окружающих тканях создались оптимальные условия, что и обеспечило в дальнейшем усиление роста регенерационного зачатка и его дифференцировки. В дальнейшем нам предстоит изучить более подробно изменения в области очага регенерации.

Повышенная дозировка лучистой энергии при 9-кратных облучениях у.-ф. лучами тормозит регенерацию. Явление задержки регенерационных

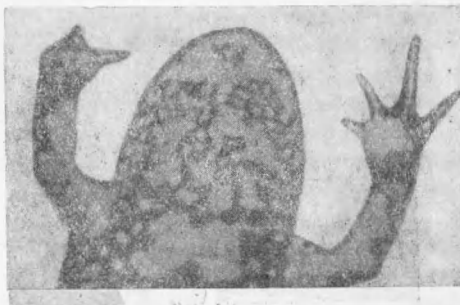


Рис. 2. Регенерация конечностей после ампутации кисти у жерлянок, двукратно облученных длинноволновыми у.-ф. лучами 45 мин. в сеанс. Сфотографировано на 4-м мес. опыта

Таким образом, для получения полноценной дифференцировки регенератов требуется оптимальное количество определенного активного раздражителя. Отклонение от этого оптимума может затормозить регенерацию или даже вызвать появление уродств. Большое значение имеет дозировка облучения и участок спектра. Наиболее действенным является тот участок спектра у.-ф. лучей, который у млекопитающих животных, в том числе и у человека, вызывает воспалительную реакцию, именно с длиной волны $\lambda = 2890-3900 \text{ \AA}$, и который является естественным раздражителем для нашей опытной группы животных.

Таким образом, в настоящем исследовании мы показали, что воздействием лучистой энергии можно регулировать регенерационные процессы у бесхвостых амфибий. Следовательно, процессы регенерации зависят не только от внутриформативных процессов, но и от влияния внешней среды.

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

Поступило
21 VIII 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Л. В. Полежаев, Тр. Ин-та цит., гист. и эмбр. АН СССР, в. 2 (1948).
- ² Е. Шульц, Сборн. Новые идеи в биологии, СПб, 1913, стр. 136. ³ И. Г. Рогова, Влияние ультрафиолетовых лучей на кожнососудистую систему теплокровных животных, Сообщ. 1—2, изд. Ужгородского госуниверситета, 1946. ⁴ Е. Толмачева-Мельниченко, Бюлл. эксп. биол. и мед., 8, № 1 (1939); 7, № 5 (1939).
- ⁵ Д. П. Филатов, Журн. эксп. биол., 7 (1931).