

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

Л. И. СКОРОБОГАТОВА

**РАСЩЕПЛЯЕМОСТЬ БЕЛКОВ ТКАНЕЙ КОНЕЧНОСТЕЙ
ЖИВОТНЫХ С РАЗЛИЧНОЙ РЕГЕНЕРАЦИОННОЙ
СПОСОБНОСТЬЮ В РАЗНЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ АМПУТАЦИИ***(Представлено академиком А. И. Абрикосовым 16 X 1951)*

Ранее было установлено (5), что протеолитическая активность тканей конечностей животных с различной регенерационной способностью меняется в зависимости от времени после ампутации. Как на объектах, у которых наступает гладкое заживление культи (белые крысы, белые мыши), так и на объектах, у которых имеется возникновение регенерата (аксолотли), отмечается увеличение протеолитической активности. Наиболее длительное изменение протеолитической активности наблюдается в регенерирующих тканях конечностей аксолотлей. Однако, как известно из литературных данных, изменение протеолиза может обеспечиваться не только изменением активности протеолитических ферментов, но и изменением устойчивости белков тканей против расщепляющего действия тканевых протеиназ. В. П. Ореховичем и Т. П. Соколовой (3) показано изменение расщепляемости белков тканей хвоста аксолотли в процессе регенерации.

В данной работе приводятся результаты исследований расщепляемости белков тканей конечностей животных с различной регенерационной способностью в различные сроки после ампутации. В качестве подопытных животных были взяты белые крысы, белые мыши и аксолотли. О степени расщепляемости белка тканей судили по приросту азота при действии на ткани конечностей глицириновыми вытяжками из печени животных того же вида. Вытяжки готовились экстрагированием печени 87% глицерином (1:3), при добавлении уксусной кислоты до конечной концентрации 0,15%, в течение 18 час. при комнатной температуре и содержанием затем в течение 8 час. при температуре 37°. После этого проводилось фильтрование. На каждые 100 мг ткани добавляли 0,5 мл глицеринового экстракта. Ткань бралась в разведении 1:5 (крысы, мыши) и 1:10 (аксолотли). Применялся ацетатный буфер с рН 4,1. Переваривание смеси шло при температуре 37° в течение 24 час.

Аминоазот определялся по Ван-Сляйку в фильтрате после осаждения 10% трихлоруксусной кислотой. На крысах было проведено 2 опыта, по 15 крыс в каждом. Ампутацию проводили на уровне половины предплечья. Исследовались ткани культей тотчас после ампутации, через 3, 7, 10 и 13 суток. У большинства крыс заживление оканчивалось к 8—10-му дню. Полученные экспериментальные данные приведены в табл. 1 (каждая цифра является средней из 3 определений).

Из данных табл. 1 следует, что на третьи сутки после ампутации отмечается повышение расщепляемости белков тканей конечностей. К 7-м суткам наблюдается некоторое снижение, к 10-м суткам расщепляемость

ниже нормы. То же отмечается и на 13-е сутки. Повидимому, образовавшаяся рубцовая ткань менее доступна воздействию протеолитических ферментов, чем нормальная ткань. Повторный опыт, проведенный также на 15 крысах, дал примерно такие же результаты. Точно так же максимум изменения в расщепляемости белков

Таблица 1

Расщепляемость белков тканей конечностей крыс (в мг азота на 1 г: а—сырого веса, б—сухого веса)

Время после ампутации	I опыт		II опыт	
	а	б	а	б
Тотчас	2,2	5,5	1,4	3,16
3 суток	4,5	14,5	3,0	8,5
7 "	3,3	9,4	1,6	4,4
10 "	1,5	4,4	2,2	6,1
13 "	0,8	2,2	1,6	4,3

наблюдался на 3-и сутки. Затем наблюдалось снижение, но к 10-м суткам расщепляемость несколько повышалась и к 13-м суткам приходила к норме. Следует отметить, что во втором опыте у части крыс наблюдались воспалительные процессы культи, они были гиперемированы, и заживление у 2 крыс было неполное.

Мышей в опыт было взято 50. Ампутация производилась на уровне половины предплечья. Обследование тканей культи производилось после ампутации тотчас, через 1, 3, 7 и 10 суток. Полученные данные приведены в табл. 2 (каждая цифра является средней из 10 определений).

Таблица 2

Расщепляемость белков тканей конечностей мышей (в мг азота на 1 г: а—сырого веса, б—сухого веса)

Время после ампутации	а	б
Тотчас	3,6	10,9
1 сутки	4,9	16,3
3 суток	6,0	20,0
7 "	5,9	15,2
10 "	2,1	6,9

Как видно из табл. 2, расщепляемость белков тканей конечностей мышей возрастает на первые сутки, затем увеличивается еще более к 3-м суткам, снижаясь несколько к 7-м суткам и спускаясь ниже нормы к 10-м, подобно тому, как это имело место с тканями конечности крыс.

Аксолотлей в опыт было взято 53. Производили ампутацию обеих задних конечностей на уровне середины бедра. Исследо-

вались в разные сроки после ампутации остаток органа и регенерат. Полученные данные по изменению расщепляемости приведены в табл. 3.

Приведенный материал показывает, что ампутация вызывает изменения расщепляемости белков тканей конечностей аксолотлей, причем повышенная расщепляемость держится продолжительное время. Еще на 22-е сутки она выше нормы у остатка органа. Следует отметить, что к 48-му дню расщепляемость ниже нормы.

Регенерат характеризуется повышенной расщепляемостью белков, особенно на стадии бласты и на стадии внешне сформированной конечности.

Инактивация ферментов исследуемой ткани помещением на 1—2 мин. в кипящую баню давала более низкие значения величин, характеризующих расщепляемость, но направление их оставалось тем же. То же направление сохраняется, если о расщепляемости белка тканей судить по разнице прироста азота при воздействии на исследуемые ткани глицериновым экстрактом печени и при аутолизе.

Сравнивая полученные данные по изменению расщепляемости белков тканей конечностей крыс, мышей и аксолотлей в разное время после

Таблица 3

Расщепляемость белков тканей конечностей аксолотля (в мг аминокислота на 1 г: а—сырого веса, б—сухого веса)

Время после ампутации	Остаток органа		Регенерат	
	а	б	а	б
Тотчас	3,4	26,1	—	—
10 дней (стадия бластемы) . .	4,2	35	5,6	48,2
22 дня (стадия конуса) . . .	4,4	33	4,4	38,6
48 дней (сформирован. конеч- ность)	2,2	18	5,4	44,6

ампутации, можно отметить, что наиболее длительное изменение отмечается у аксолотлей. Если расщепляемость белков тканей конечностей у мышей и крыс больше всего на 3—7-й день, быстро приходит к норме, а затем даже снижается, то у аксолотлей повышение расщепляемости белка выражено более всего на стадии бластемы (на 10-й день) как для остатка органа, так и для регенерата, причем эта повышенная расщепляемость держится длительное время. В отношении вновь образованной конечности не удалось наблюдать в опыте возвращения к норме, даже на 48-й день.

Следует указать, что при повторении опыта в такой же постановке на 48 аксолотлях расщепляемость белка тканей конечностей на стадии внешне сформированной конечности равнялась норме. В остальном результаты опыта повторялись. Большая пластичность белка тканей конечностей аксолотля и связанная с этим большая возможность изменения соотношения ферментов за счет перехода из макрорегетерогенного состояния в микрогетерогенное ⁽²⁾, повидимому, обеспечивают возможность накопления в большом количестве продуктов распада, участвующих в восстановлении органов, в частности конечностей. У теплокровных животных в процессе заживления наблюдаются тоже сдвиги в изменении расщепляемости белков, но они очень кратковременны, и регенерация сводится к гладкому заживлению культи.

На основании большого экспериментального материала, полученного на бесхвостых амфибиях, Л. В. Полежаев ⁽⁴⁾ пришел к выводу, что для регенерации органов, в частности конечностей, основной предпосылкой является интенсивный процесс разрушения и дедифференцировки мезодермальных тканей в области ампутации. Выявленная особенность ограниченности в разрушаемости белков тканей конечностей мышей и крыс может, с этой точки зрения, быть препятствием для вызывания хотя бы атипичной регенерации.

Изменения протеолиза после ампутации как за счет изменения ферментной активности, так и за счет изменения расщепляемости белков тканей конечностей аксолотля вследствие их длительности и вовлечения тканей, не соприкасающихся с ампутационной поверхностью, обеспечивают длительное поступление продуктов распада тканей, могущих быть использованными для восстановления утерянного органа. О. Б. Лепешинская ⁽¹⁾, изучая процесс заживления ран у мышей, подчеркивает, что продукты клеточного распада являются не только средой, стимулирующей рост и размножение, но могут быть использованы в качестве материала, идущего на образование новых клеток.

Результаты наших исследований о различиях в протеолитических процессах в тканях конечностей после ампутации у животных с различной регенерационной способностью, в свете приведенных данных, позволяют предположить, что изменение интенсивности протеолиза у мышей и крыс

может сказаться на ходе процесса регенерации. Справедливость этого предположения должна быть проверена дальнейшим исследованием.

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

Поступило
21 VII 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ О. Б. Лепешинская, Происхождение клеток из живого вещества и роль живого вещества в организме, 1950. ² А. И. Опарин, Тр. Моск. дома ученых и Ин-та биохимии АН СССР, 4 (1940). ³ В. П. Орехович и Т. П. Соколова, ДАН, 28, № 8 (1940). ⁴ Л. В. Полежаев, Тр. Ин-та цитол., гист. и эмбр. АН СССР, 2, 2(1948). ⁵ Л. И. Скоробогатова, ДАН, 79, № 6 (1951).