

Т. М. ЯКОВЛЕВА

ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ РЕГЕНЕРАЦИОННОЙ КЛЕТКИ

(Представлено академиком А. И. Абрикосовым 28 I 1952)

В моих предыдущих работах (6, 7), посвященных возникновению клеток «эмбрионального» типа при регенерации у ящерицы и у аксолотля, был избран единообразный признак превращения клеток дифференцированной ткани в клетку «эмбрионального» типа. Таким признаком являлось изменение относительного количества рибозонуклеиновой кислоты в плазме преобразующихся клеток и потеря последними способности к коацервации в форме гранул при реакции с нейтральной красной. Кроме того, проводилось сопоставление клеток регенерационной бластемы с клетками эмбриона по этому же признаку. Было установлено, что при возникновении клеток «эмбрионального» типа из клеток дифференцированной ткани относительное количество рибозонуклеиновых кислот в их цитоплазме увеличивается и на стадии наибольшего сходства с клетками эмбриона нуклеиновые кислоты становятся неспособными к коацервации в форме гранул при реакции с нейтральной красной. Продолжая исследование свойств регенерационной клетки, я избрала несколько новых признаков, по которым можно было бы проследить превращение клетки дифференцированной соединительной ткани в регенерационную.

Таковыми признаками явились следующие: 1) тимонуклеиновая кислота, обнаруживаемая реакцией Фельгена; 2) изоэлектрическая точка ядра и плазмы; 3) содержание аргинина в ядре и плазме.

Клеман-Ноэль (1) показала, что при регенерации у планарии ядра клеток бластемы окрашиваются более интенсивно по Фельгену, чем ядра клеток нормы, и что, следовательно, параллельно с увеличением рибозонуклеиновой кислоты в плазме преобразующихся клеток происходит также увеличение тимонуклеиновой кислоты в ядре. Мною было произведено изучение ядра клетки при преобразовании клеток дифференцированной соединительной ткани в регенерационные. Материалом служила соединительная ткань хвоста аксолотля и тритона (*Triton cristatus*, *T. taeniatus*) и мезенхима сформированной личинки тритона, зафиксированной накануне вылупления. Регенераты хвоста были зафиксированы через различные сроки после ампутации фиксаторами: Карнуа, Ценкер-формол, Ценкер-уксусная и Сан-Феличе (в модификации С. Л. Фроловой). После заливки в парафин на срезах были произведены: а) реакция Фельгена и б) окраска гематоксилином Караччи. Изучение препаратов показало следующее. Ядра регенерационных клеток нельзя назвать слабо структурированными, как было отмечено мной в появившихся в печати работах, где применялась фиксация жидкостью Бирх-Гиршфельда и окраска азур-эозином (6, 7). В действительности хроматиновые структуры ядра регенерационной клетки выявляются различно

в зависимости от способа фиксации и дальнейшей гистологической обработки. При употреблении фиксаторов Сан-Феличе и Карнуа и окраске срезов гематоксилином регенерационные клетки имеют большое ядро с четко выраженными структурами. Благодаря увеличению ядра хроматиновые структуры находятся одна от другой на большем расстоянии, чем в значительно меньшем по объему ядре клетки неизменившейся ткани, и это создает впечатление «светлого» ядра.

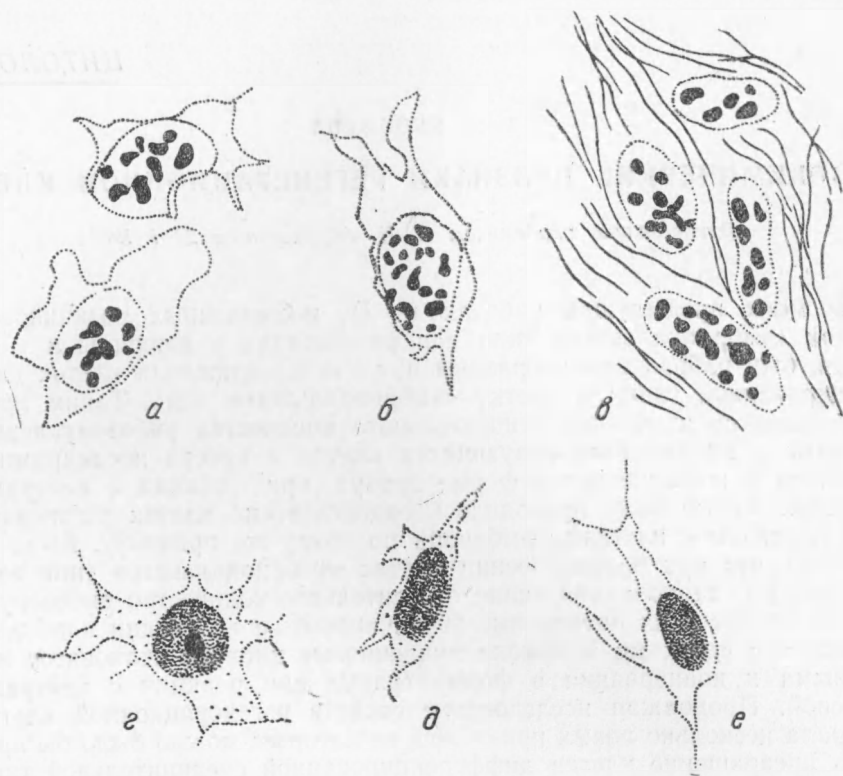


Рис. 1. *а* — клетки регенерационной бластемы тритона, реакция Фельгена; *б* — мезенхимная клетка личинки тритона, реакция Фельгена; *в* — фибробласты нормальной соединительной ткани, реакция Фельгена; *г* — клетки регенерационной бластемы аксолотля, реакция на аргинин; *д* — мезенхимная клетка личинки аксолотля, реакция на аргинин; *е* — фибробласт нормальной соединительной ткани, реакция на аргинин

При обработке срезов по Фельгену тимонуклеиновая кислота ядра под влиянием гидролиза освобождает альдегидные группы, реагирующие с фуксинс-сернистой кислотой. Внешним проявлением реакции является фиолетовое окрашивание. Усиление или ослабление такого окрашивания должно указывать на увеличение или уменьшение количества тимонуклеиновой кислоты. По моим наблюдениям, нельзя установить никакого заметного увеличения интенсивности фиолетового окрашивания хроматина регенерационной клетки по сравнению с интенсивностью окрашивания хроматина фибробласта соединительной ткани, находящейся далеко от раневой поверхности (см. рис. 1 *а, в*). Благодаря тому, что в ядрах фибробластов хроматин расположен более компактно, чем в ядрах регенерационных клеток, последние часто кажутся даже более интенсивно окрашенными.

Ядра клеток других тканей (мышцы, хрящ) также не показывают заметной менее интенсивной реакции по Фельгену по сравнению с ядрами регенерационных клеток. Таким образом, на основании моих наблю-

дений можно заключить, что при возникновении клеток регенерационной бластемы заметного для глаза увеличения количества тимонуклеиновой кислоты в их ядрах не происходит.

Ядро мезенхимной клетки сформированной личинки аксолотля по величине, некомпактно расположенному хроматину, хорошо красящемуся в фиолетовый цвет при реакции Фельгена, сходно с ядром клетки регенерационной бластемы (рис. 1 б).

Вторым разделом работы явилось измерение изоэлектрической точки в ядре и плазме преобразующихся клеток. Объектами исследования служили соединительная ткань плавниковой части хвоста аксолотля и тритона и мезенхима личинки аксолотля и тритона накануне вылупления. Измерение ИЭТ проводилось хорошо известным в литературе методом Пишингера (2).

Применялись кислые красители: кислый фуксин и кристалл-понсо, и основной — толуидиновая синяя.

Исследование показало следующие значения ИЭТ: ядра нормы — рН 3,9; плазмы нормы — рН 4,5; ядра регенерационной клетки — рН 3,9; плазмы регенерационной клетки — рН 3,9; ядра мезенхимной клетки личинки — рН 3,6; плазмы мезенхимной клетки личинки — рН 3,6.

Таким образом, в процессе регенерации, при возникновении клеток эмбрионального типа путем преобразования в них фибробластов плавниковой соединительной ткани аксолотля или тритона происходит сдвиг изоэлектрической точки в кислую сторону только лишь в плазме. Однако этот сдвиг значительно меньше, чем этого можно было бы ожидать, судя по огромному увеличению количества рибозонуклеиновых кислот плазмы, а изоэлектрическая точка плазмы фибробласта нормальной ткани лежит более низко, чем она, казалось, должна была бы лежать, так как плазма фибробласта лишь слабо базофильна и содержит очень незначительное количество рибозонуклеиновой кислоты. Повидимому, не только количество рибозонуклеиновой кислоты является решающим для определения изоэлектрической точки плазмы.

Изоэлектрическая точка ядра фибробласта и регенерационной клетки одинакова. Возможно, что изоэлектрическая точка ядра определяется, главным образом, содержащейся в нем тимонуклеиновой кислотой, и тогда этот результат совпадает с полученным при применении реакции Фельгена и, следовательно, показывает, что количество тимонуклеиновой кислоты ядра при преобразовании клеток дифференцированной соединительной ткани в регенерационные заметно не увеличивается. Изоэлектрическая точка регенерационной клетки лежит очень близко к изоэлектрической точке личинки накануне вылупления, однако изоэлектрическая точка последней несколько ниже. Таким образом, клетки регенерационной бластемы, возникающие при регенерации соединительной ткани хвоста аксолотля и тритона, являются сходными с клетками эмбриональной мезенхимы личинок этих животных по следующим признакам. Они имеют крупные ядра, крупные и отчетливо выделяющиеся ядрышки (6, 7). Хроматин ядра расположен некомпактно и хорошо красится в фиолетовый цвет при реакции по Фельгену. Цитоплазма содержит в очень большом количестве рибозонуклеиновую кислоту (6, 7). Изоэлектрическая точка ядра и плазмы одинакова. Изоэлектрическая точка клетки эмбриональной мезенхимы (рН 3,6) несколько ниже изоэлектрической точки регенерационной клетки (рН 3,9).

По данным Касперсона, в базофильной плазме молодых клеток, наряду с рибозонуклеиновыми кислотами, находятся так называемые гексоновые основания — аминокислоты, имеющие щелочную реакцию: гистидин, аргинин и лизин. При измерении изоэлектрической точки плазмы клетки регенерационной бластемы я получила более высокое значение ИЭТ (рН 3,9), чем можно было ожидать, судя по очень большому количеству содержащихся в ней рибозонуклеиновых кислот.

Это обстоятельство, казалось, подтверждало данные Касперсона о наличии в плазме, наряду с нуклеиновыми кислотами, веществ, имеющих щелочную реакцию.

Реакция на обнаружение аргинина была разработана в Португалии Серра, а в СССР Г. И. Роскиным и М. Е. Струве (3-5). Согласно этой реакции, присутствие аргинина обнаруживается по оранжевому окрашиванию отдельных частей клетки с различной степенью интенсивности.

Объектами моего исследования были: фибробласты плавниковой соединительной ткани аксолотля, возникающие из них регенерационные клетки и мезенхимные клетки личинки аксолотля накануне вылупления.

Работа дала следующие результаты:

1) Ядро нормальной клетки соединительной ткани — интенсивно окрашено.

2) Плазма нормальной клетки соединительной ткани — бесцветна.

3) Ядрышко нормальной клетки соединительной ткани — не выделяется.

4) Ядро регенерационной клетки — интенсивно окрашено.

5) Плазма регенерационной клетки — очень слабо окрашена.

6) Ядрышко регенерационной клетки — очень интенсивно окрашено.

7) Ядро мезенхимной клетки личинки — интенсивно окрашено.

8) Плазма мезенхимной клетки личинки — очень слабо окрашена.

9) Ядрышко мезенхимной клетки личинки — слабо окрашено (см. рис. 1 *г, д, е*).

Таким образом, ожидавшегося резкого увеличения количества аргинина в плазме регенерационных клеток не наблюдается. Плазма клеток регенерационной бластемы обнаруживает лишь слабо розовое едва заметное окрашивание. Количество аргинина в ядре преобразующихся клеток остается неизменным, но зато оно сильно увеличивается в ядрышке, которое резко выделяется на оранжевом фоне ядра своим темно-оранжевым оттенком. Сравнивая клетки регенерационной бластемы с мезенхимной клеткой личинки аксолотля накануне вылупления по содержанию аргинина в их плазме, ядре и ядрышке, следует указать на наличие сходства между ядрами и плазмами этих клеток и на различие между их ядрышками.

Рассматривая изменения клетки соединительной ткани аксолотля и тритона при превращении ее в регенерационную клетку по избранным показателям (ИЭТ ядра и плазмы, реакция Фельгена и аргинин ядра и плазмы), можно сделать следующее заключение: заметным изменением является только сдвиг ИЭТ в кислую сторону в плазме преобразующихся клеток, что согласуется с фактом увеличения в плазме этих клеток рибозонуклеиновой кислоты. Ядро в отношении указанных показателей, повидимому, особых изменений не претерпевает.

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

Поступило
5 1 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ H. Clément-Noël, Ann. Soc. Roy. Zool. Belg., 75 (1944). ² A. Pischinger, Zs. Zellforsch. und micr. Anat., 3, H. 2 (1926). ³ Г. И. Роскин и М. Е. Струве, ДАН, 58, № 8 (1947). ⁴ I. A. Serra, Portugaliae Acta Biologica, No. 1 (1944). ⁵ I. A. Serra, Naturwissenschaften, 32 (1944). ⁶ Т. М. Яковлева, ДАН, 41, № 5 (1943). ⁷ Т. М. Яковлева, ДАН, 41, № 6 (1943).