

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

Н. Ф. БАРАКИНА

**ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ РИБОНУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ
В КЛЕТКАХ ПРИ ИСКУССТВЕННО ВЫЗВАННОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ
ОРГАНА**

(Представлено академиком А. И. Абрикосовым 12 VIII 1952)

Рибонуклеиновая кислота, повидимому, играет большую роль в осуществлении белкового синтеза⁽⁴⁾ и ее большая концентрация в тканях, связанных с ростом, размножением, регенерацией и секреторной деятельностью, вполне обосновывает это предположение. В цитоплазме клеток высокоспециализированных тканей, обладающих высокой физиологической регенерацией (эпидермис, костный мозг и др.), содержится много рибонуклеиновой кислоты. Возобновление этих тканей требует, повидимому, того, чтобы рибонуклеиновая кислота непрерывно вырабатывалась клетками. То же можно сказать и о клетках желез, образующих белковые продукты секреции. В тканях с высокой физиологической активностью, но не синтезирующих большого количества белка (мышцы, почки), рибонуклеиновая кислота содержится в незначительных количествах и не улавливается цитохимическими методами. Для того чтобы эти ткани начали вырабатывать рибонуклеиновую кислоту, необходима их перестройка. Известно, что при определенных условиях натяжения мышечная ткань регенерирует, и тогда при ее дедифференцировке образуются базофильные миобласты⁽⁶⁾.

В предыдущих исследованиях нами было изучено у различных позвоночных животных изменение содержания рибонуклеиновой кислоты в регенерирующих конечностях и в тканях остатка органа при отсутствии регенерации и показано, что способность тканей к образованию рибонуклеиновой кислоты и их способность к регенерации в составе органа стоят в непосредственной связи⁽¹⁻³⁾.

Интересно проследить изменения содержания рибонуклеиновой кислоты в условиях искусственно вызванной регенерации. Для вызывания регенерационного процесса был использован метод травматизации⁽⁵⁾. Опыт состоял в следующем: у головастиков лягушек *Rana temporaria* на стадии Пв (по Бляхеру), когда естественной регенерации конечностей у них не происходит, ампутировались обе задние конечности на уровне второй трети голени. Культия правой конечности затем подвергалась четырехкратной травматизации в 1, 2, 3 и 4 сутки, которая производилась тонкой иглой; культия левой конечности никаким воздействиям не подвергалась. Всего в опыте было 250 животных. Для исследования брались только положительные результаты опыта, т. е. когда регенерировала правая травматизированная и не регенерировала левая конечности (это составляло 28,9%). Материал фиксировался на 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 12, 15 сутки после ампутации в жидкости Гелли. Срезы красились гематоксилином — эозином, метиловым зеленым

и пиронином по Унна. Рибонуклеиновая кислота определялась по методу Браше.

На стадии IIв метаморфоза головастиков конечность имеет следующее гистологическое строение. Кожа состоит из 2—3 слоев эпителиальных клеток, под которыми располагается тонкая прослойка кориума. Кожные железы не развиты. Скелет бедра и голени в диафизах представлен окостеневающим хрящом, эпифизы целиком хрящевые. Мышечная ткань в голени представлена в виде плотных скоплений миобластических клеток, расположенных вокруг скелета. В бедре мышечная ткань начинает формироваться в волокна.

На этой стадии развития концентрация рибонуклеиновой кислоты во всех тканях органа очень высокая. Клетки эпителия имеют резко базофильную цитоплазму и ядрышки, причем базальный слой красится пиронином значительно сильнее. Резко базофильны клетки надкостницы, клетки хряща в эпифазах, костные клетки, замурованные в костном веществе. В мышечной ткани рибонуклеиновая кислота имеет различную концентрацию в зависимости от степени дифференцировки ткани. В миоблестах рибонуклеиновая кислота содержится в большой концентрации, а там, где мышечная ткань начала формироваться в волокна, рибонуклеиновая кислота концентрируется в околоядерных участках.

После ампутации в первые сутки обе культы как правая — опытная, так и левая — контрольная дают весьма сходную морфологическую картину. Ампутационная поверхность покрыта 2—3-слойным эпителием, который образует многоядерные утолщения. Под эпителием находится небольшое количество крови и много фрагментов разрушающихся клеток к виде округлых и неправильной формы капелек ядерного вещества и цитоплазмы. Концентрация рибонуклеиновой кислоты в клетках сохраняется той же, только эпителий, покрывающий ампутационную поверхность, имеет больше базофильных слоев, чем тот, который отстоит от раны на некоторое расстояние. Обломки цитоплазмы также резко базофильны.

На вторые сутки после ампутации в подопытной культе значительно больше кровяных элементов, детрита; в мышечных закладках голени наблюдается дезинтеграция. Все это — результат добавочной травмы. В левой культе только незначительное расчленение мышечных закладок в самой дистальной части голени, клеток крови значительно меньше. В обеих конечностях встречаются единичные макрофаги, а в левой конечности иногда можно видеть среди клеток крови клетки фибробластического типа. Степень концентрации рибонуклеиновой кислоты в клетках обеих конечностей сохраняется попрежнему высокой. Соединительнотканые клетки, находящиеся в непосредственной близости от раны, повышают свою базофилию и по степени окраски пиронином не отличаются от окружающих тканей.

На 3 сутки после ампутации и после трехкратной травматизации правой конечности в ней под эпителием находится большое количество клеток крови, среди которых много разрушающихся. Очень значительны разрушения всех тканей голени. Костная ткань и промежуточное вещество хряща лизируются. Мышечная ткань в проксимальной части голени расчленена, в дистальной части разрушается, образуя большое количество плазматической и ядерной зернистости. Среди этой массы детрита и клеток крови встречаются макрофаги. Все эти изменения в голени являются результатом новой травмы. В бедре продолжается дифференцировка всех тканей; в коже появляются железы; мышечная ткань продолжает формироваться в волокна. Концентрация рибонуклеиновой кислоты в клетках этой конечности сохраняется прежней, и лишь в проксимальной части органа в бедре, где происходит дифференцировка тканей, базофилия снижается. Левая конечность значительно отличается от правой. Под эпителием, покрывающим раневую поверх-

ность, встречаются лишь единичные кровяные элементы. Миобласты дистальной части голени расположены вытянутыми полосками. Травмированная кость закупорена тонкой полоской хрящевого вещества. Соединительная ткань заполняет все пространство между эпителием и остатком кости, врастая в мышечную ткань. В бедре и проксимальной части голени мышечная ткань сформирована в хорошо выраженные волокна с поперечной исчерченностью. Концентрация в этой конечности рибонуклеиновой кислоты постепенно снижается в соответствии с прсдвинувшимися процессами дифференцировки, причем общее снижение кислоты в левой конечности быстрее, чем в правой.

На 4 сутки после ампутации и после 4-кратной травматизации в правой конечности под эпителием, вновь покрывающим рану, все ткани разрушены, и только отдельные клетки с различной степенью дегенерации лежат среди детрита. В некоторых случаях разрушение захватывает всю голень.

Сильно базофильными являются клетки эпителия, покрывающего ампутационную поверхность, и клетки соединительной ткани, встречающиеся среди детрита. В левой конечности идет дальнейшее заживление. Соединительнотканнные клетки в области бывшей раны вытягиваются, располагаясь параллельными рядами, между ними появляется волокнистое вещество. Высокая концентрация рибонуклеиновой кислоты наблюдается только в базальном слое эпителия, в соединительнотканнных клетках области раны, надкостницы и в дистальных частях голени, где еще не закончена дифференцировка миобластов.

В последующие дни в правой конечности происходит постепенное нарастание в подэпителиальной части количества бластемных клеток, которые образуются в результате дедифференцировки оставшихся тканей голени и бедра. Базофилия этой части конечности резко повышается. В левой конечности происходит дальнейшее снижение концентрации рибонуклеиновой кислоты; но соединительнотканнные клетки области раны долго остаются базофильными.

На 10 сутки после ампутации начинается дифференцировка бластемы в правой конечности.

К 15 суткам правая конечность внешне вполне сформирована, но гистологическая дифференцировка ее тканей еще не закончена. В регенерирующей голени все ткани имеют высокую концентрацию рибонуклеиновой кислоты; в бедре базофильны только эпителий, особенно его базальный слой, надкостница, клетки хряща в эпифизах и небольшие околядерные участки мышечных волокон. В левой конечности как в голени, так и в бедре базофильны только эпителий, надкостница и небольшие околядерные участки мышц дистальной части голени. Клетки формирующегося рубца также базофильны.

Таким образом, в течение эксперимента было выяснено различное поведение тканей в регенерирующей и контрольной конечностях. В контроле регенерация не идет, но продолжается нормальная дифференцировка органа; количество рибонуклеиновой кислоты уменьшается. В правой конечности в результате многократной травматизации происходит разрушение тканей дистальной части голени или всей голени целиком. Одновременно происходит некоторая задержка дифференцировки в бедре, что ясно видно при сравнении с контрольной. После прекращения травматизации наблюдается постепенное образование бластемы. В клетках бластемы образуется в большом количестве рибонуклеиновая кислота.

В дальнейшем за счет образовавшейся бластемы формируется правая конечность, причем в течение всей регенерации все ткани, составляющие регенерат, содержат рибонуклеиновую кислоту (хрящ, мышцы, соединительная ткань, эпителий, надкостница). На сравнимых стадиях в левой конечности рибонуклеиновая кислота наблюдается только в

базальном слое эпидермиса, в надкостнице, соединительнотканых клетках раны и в мышечных клетках самой дистальной части голени.

Полученный экспериментальный материал, так же как и данные прежних исследований, показывают, что образование в цитоплазме рибонуклеиновой кислоты является одним из неперенных условий при регенерации. Это, однако, еще не указывает на то, что наличие в клетках рибонуклеиновой кислоты является причиной регенерации, но при других прочих условиях определенная концентрация рибонуклеиновой кислоты необходима, и регенерация без нее, как нам представляется, идти не может.

В нашем опыте условием, побуждающим организм активировать ткани и клетки в месте ампутации, является травматизация. На более поздних стадиях метаморфоза головастиков травматизация уже не вызывает желательных сдвигов в организме.

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

Поступило
23 I 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Н. Ф. Баракина, ДАН, 79, № 6 (1951). ² Н. Ф. Баракина, ДАН, 81, № 2 (1951). ³ Н. Ф. Баракина, ДАН, 83, № 6 (1952). ⁴ Б. В. Кедровский, Усп. совр. биол., 31, № 1 (1951). ⁵ Л. В. Полежаев, Тр. Ин-та цитолог. и эмбриолог., 2, в. 2 (1948). ⁶ А. Н. Студитский и А. Р. Стриганова, Восстановительные процессы в скелетной мускулатуре, 1951.



Рис. 1. Рентгенограммы крыши черепа подопытных кроликов через различное время после пересадки: *а* — через 18 дней; трансплантат в дефекте черепа почти не рентгеноконтрастный. *б* — через 55 дней; появилась тень в области трансплантата; контуры дефекта сохранились, что свидетельствует о развитии кости в дефекте не за счет краев костного ложа, а за счет трансплантата. *в* — через 3 мес.; изображение области трансплантата, сходное с изображением костей ложа; границы между ложем и трансплантатом почти неразличимы



Рис. 2. Участок трансплантата через 21 день после пересадки. Хорошо видны остециты с характерными отростками. Костная ткань имеет типичное строение. Микрофото. Ув. 15×40