

EXPERIMENTAL MORPHOLOGY

V. P. Kudokotsev. Regeneration process of extremity in lizard, stimulated by the method of supplementary innervation 233

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОРФОЛОГИЯ

В. П. КУДОКОЦЕВ

**СТИМУЛЯЦИЯ РЕГЕНЕРАЦИОННОГО ПРОЦЕССА
КОНЕЧНОСТИ ЯЩЕРИЦ МЕТОДОМ ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ
ИННЕРВАЦИИ**

(Представлено академиком И. И. Шмальгаузенем 23 VI 1961)

В последние годы была обнаружена определенная связь между количеством нервных волокон, иннервирующих конечность у бесхвостых амфибий, и ее регенерационной способностью. Удалось стимулировать регенерацию конечностей у лягушек путем подведения дополнительного нерва в ампутированную конечность (^{13,16}). Было показано, что различия в регенерационной способности конечности после ее ампутации на разных уровнях обусловлены неодинаковым количеством нервных волокон, входящих на единицу площади поперечного сечения конечности (¹⁷).

В свете вышеупомянутых экспериментов по усилению регенерационной способности конечностей у бесхвостых амфибий, которые в той или иной степени проявляют эту способность и в естественных условиях, представляет интерес исследовать возможность восстановления способности к регенерации конечностей у наземных позвоночных, утративших ее в филогенезе в специфических условиях наземного образа жизни (^{1,4-6,8}).

В ряде работ было показано, что конечности ящерицы *Laecerta agilis* L. обычно не регенерируют (^{6,9}). Нами была предпринята попытка восстановить регенерационную способность задней конечности взрослой ящерицы путем снабжения ее дополнительными нервными волокнами.

В выполнении экспериментальной части работы участвовал Л. Н. Оринич. У подопытных животных ампутировали правую заднюю конечность посередине бедра. На левой задней конечности отпрепаровывали нерв (п.^н femoralis), прикрепляли к нитке и при помощи иглы подводили под кожей брюха в культю правой задней конечности. Эта культя, таким образом, помимо своих собственных нервов дополнительно иннервировалась нервом из левой конечности. Денервированную конечность затем ампутировали у основания и раневую поверхность закрывали лоскутом кожи. Наряду с опытной были поставлены две контрольные серии. В I контрольной серии осуществляли такое же подведение нерва в культю правой задней конечности, как и в опытной, но вслед за этим подведенный нерв перерезали в его проксимальном отделе. Во II контрольной серии производили обычную ампутацию конечности посередине бедра. У контрольных животных, так же как и у опытных, дополнительно ампутировали левые задние конечности.

По истечении 3 мес. после ампутации при наружном осмотре было обнаружено, что у всех 29 оставшихся ящериц из обеих контрольных серий регенерация отсутствовала: раневая поверхность покрылась кожей с чешуйками, и образовалась культя. В отличие от контрольных, у 2 из 28 ящериц опытной серии осуществилась атипичная регенерация конечности. Регенераты имели вид покрытого чешуйками конуса с цилиндрическим придатком на вершине, обладали подвижностью и при передвижении животных использовались ими для опоры (рис. 1).

Регенераты и культы подопытных и контрольных животных были зафиксированы и расчленены на серии срезов, в дальнейшем окрашенных по Маллори. Изучение препаратов показало, что регенераты обладают скеле-

том, мускулатурой, нервными волокнами и прочими компонентами конечности (рис. 2). Новообразованная кожа имеет вполне типичное строение и состоит из эпидермиса с хорошо выраженным роговым слоем и кориума с залегающими в нем пигментными клетками. Скелет регенератов образован хрящевыми элементами, подвижно сочлененными суставными поверхностями. Хрящи окружены волокнистой соединительной тканью и новообразованными мышечными волокнами, значительная часть которых лежит изолированно от мышц культи конечности. Последнее свидетельствует о том, что их образованию предшествует возникновение миобластов. В регенератах много кровеносных сосудов и нервных волокон.

При гистологическом исследовании срезов культи у 9 ящериц из опытной серии, у которых при наружном осмотре регенерация не констатировалась, в 3 случаях на ампутационной поверхности обнаружена регенерационная почка, состоящая из новообразованного хряща, отходящего от конца ампутированной кости, волокнистой соединительной ткани и вполне дифференцированной кожи с чешуйками. Образование подобной регенерационной почки наблюдается также в одном из 4 изученных опытов в I контрольной серии. Во II контрольной серии после обычной ампутации конечности сколько-нибудь заметного удлинения культи ни у одного из 6 исследованных животных не обнаружено; во всех случаях раневая поверхность затянулась старой и новообразованной кожей, под которой возникла рубцовая соединительная ткань, а вокруг дистального отдела костной культи сформировалась костно-хрящевая мозоль.

После того как регенераты и культи конечностей были ампутированы вместе с небольшим участком туловища для последующего гистологического изучения (при этом в большинстве случаев полностью удалялся проксимальный отдел бедренной кости или же в ране оставляли эпифиз с небольшим участком диафиза), на раневой поверхности у некоторых животных появились небольшие регенерационные почки, которые постепенно сформировались в регенераты, значительно отличающиеся по своему строению и внешнему виду от описанных выше. Так, например, на 42-е сутки после фиксации регенерата, возникшего в результате дополнительной иннервации конечности (рис. 1), на раневой поверхности вновь обнаружен регенерационный конус длиной в 5,5 мм. Через 3 мес. регенерат цилиндрической формы достиг 8 мм в длину и был покрыт чешуйками, по форме типичными для кожи конечности. На срезах обнаружено, что регенерат образован вполне дифференцированной кожей, рыхлой соединительной и жировой тканями и новообразованными мышечными волокнами, которые образуют метамерные пучки. Последнее весьма характерно для регенератов хвоста ящериц. В регенерате имеются кровеносные сосуды и большое количество нервных волокон; скелетные элементы отсутствуют. В остальных регенератах обнаружены округлые или палочковидные хрящи, отходящие от старой кости или же лежащие изолированно в проксимальной части регенерата (рис. 4).

Сходные регенераты возникли во всех сериях, однако в опытной серии, после дополнительной иннервации конечности, в несколько большем проценте случаев. Так, в то время как в опытной серии регенерация имела место у 5 из 14 оставшихся в живых ящериц (35,7%), в I контрольной серии она наблюдалась у 1 из 6 (16,7%), а во II серии — у 2 из 7 ящериц (28,6%).

Возникает вопрос о том, можно ли считать регенератами конечности органы, сформировавшиеся после фиксации регенератов и культей в трех сериях опытов. Такие органы в большинстве случаев имеют цилиндрическую форму и покрыты кожей с чешуйками, характерными для кожи конечности. Вместе с тем, они обладают признаками регенератов хвоста. К последним относятся метамерное расположение мышечных волокон и наличие большого количества жировой ткани. Таким образом, в строении регенератов обнаруживаются черты, характерные как для конечности, так и для хвоста. Возникновению таких регенератов во всех сериях опытов, хотя и в разном проценте случаев, по всей вероятности, способствовала повторная ампута-

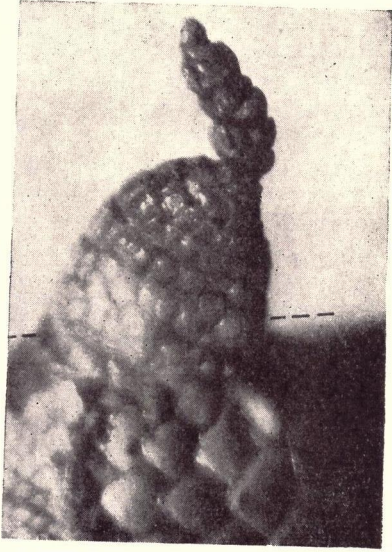


Рис. 1. Регенерат конечности ящерицы. Ок. 7, об. 1,15 ×



Рис. 2. Продольный срез через 90-дневный регенерат конечности ящерицы. Ок. 4, об. 3,7 ×

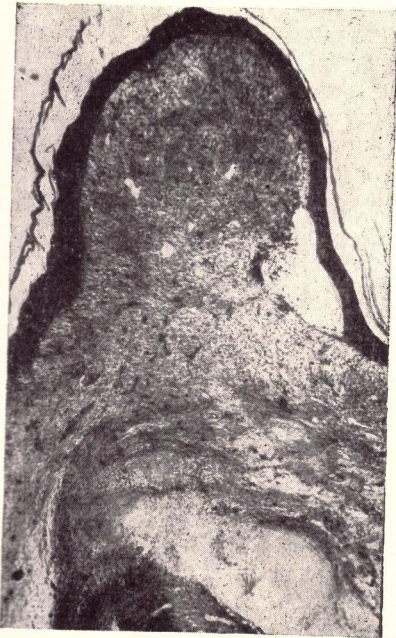


Рис. 3. Продольный срез через регенерационную почку, сформировавшуюся на 47 сутки после повторной ампутации конечности. Ок. 10, об. 3,7 ×

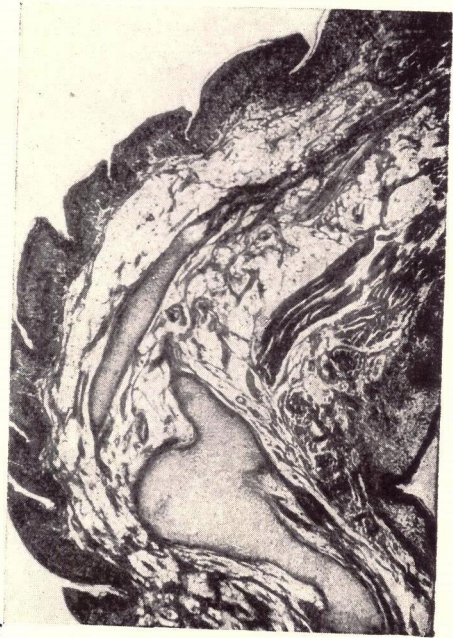


Рис. 4. Продольный срез через 90-дневный регенерат, сформировавшийся после повторной ампутации конечности. Ок. 10, об. 3,7 ×

ция конечности, но главным образом — глубокое травмирование области тела вблизи основания хвоста, в связи с чем в регенерационный процесс могли вовлекаться мускулатура и различные тканевые компоненты области хвоста. При этом формировались органы необычного строения. Как известно, мускулатура и другие компоненты хвоста, участвуя в регенерации конечности, оказывают существенное влияние на исход регенерации (1).

Нами были изучены некоторые стадии формирования регенератов у ящериц. Так, в опытной серии на 47-е сутки после ампутации культи нерегенерирующей конечности на раневой поверхности обнаружена нежная регенерационная почка, которая была зафиксирована и исследована на сериях срезов. На препаратах установлено, что такая почка образована многослойным эпителием, с хорошо выраженным роговым слоем, и регенерационной бластемой (рис. 3). Эпителиальный пласт регенерата значительно превосходит по своей толщине эпидермис кожи конечности и подостлан тонкими коллагеновыми волокнами. В бластеме преобладают фибробластические клеточные элементы, лежащие в густой сети из коллагеновых волокон. Хорошо заметны пучки этих волокон, врастающие в регенерат от корiumа старой кожи. На обресе сохранившегося участка бедренной кости уже сформировалась хрящевая почка — закладка скелета регенерата. Окружающие ее фибробластические элементы бластемы сгущаются и постепенно трансформируются в хрящ, благодаря чему осуществляется его аппозиционный рост.

Два других регенерата, зафиксированных также в возрасте 47 дней, имели вид конуса и цилиндра красноватого цвета и находились на несколько более поздней стадии развития, чем предыдущий. В этих регенератах процесс сгущения клеточных элементов бластемы уже распространился в дистальном направлении, соответственно наблюдалось удлинение новообразованного хрящевого скелета. В одном из регенератов обнаружено слияние миобластов и формирование мышечных трубочек. Эпителиальный пласт на вершине регенерата несколько утолщен и напоминает апикальную эпителиальную шапочку, описанную для развивающихся почек конечностей у эмбрионов рептилий и других позвоночных (14). Имеются данные, которые говорят о том, что это образование играет существенную роль при регенерации конечностей у амфибий (19).

Интересно отметить, что в двух регенератах подстилающая эпителий базальная мембрана в некоторых местах разрушилась, а округляющиеся разрозненные эпителиальные клетки несколько погрузились в бластему. Весьма вероятно, что аналогичные картины, наблюдаемые некоторыми исследователями при изучении регенерации у амфибий, способствовали возникновению представления о формировании регенерационной бластемы из эпителиальных клеток (15). На наших препаратах эпителиальные клетки всегда резко отличались от клеточных элементов бластемы, и никогда мы не наблюдали картины постепенного преобразования одних клеток в другие.

Относительно механизма, стимулирующего влияния дополнительной иннервации на регенерацию конечностей, могут быть высказаны следующие соображения. В ряде исследований было показано, что процессы клеточного деления находятся под контролем нервной системы. Денервация органа подавляет митотическую активность в его тканевых компонентах, нарушает нервную трофику и оказывает неблагоприятное влияние на процессы физиологической и репаративной регенерации (2, 3, 7, 12). Стимулирующее влияние дополнительной иннервации на возникновение регенерата у ящериц, по всей вероятности, в значительной мере обусловлено усилением процессов пролиферации скелета культи, поскольку эти процессы играют существенную роль в формировании регенерата. Вместе с тем, дополнительная иннервация способствует возникновению регенерационной бластемы, из которой, главным образом, формируется дистальный отдел регенерата.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что утрата способности к регенерации конечностей у ящериц обусловлена не утратой

или значительным ослаблением регенерационной способности тканей, а иными причинами. Можно предположить, что в ходе эволюции предков наземных позвоночных животных имело место нарушение необходимых для регенерации конечности взаимоотношений между нервными волокнами и прочими компонентами конечности, следствием чего и явилась утрата ее регенерационной способности, подобно тому как разрывы морфогенетических корреляций в ходе эмбриогенеза могут приводить к исчезновению органа (11). Известно, например, что у хвостатых амфибий можно подавить регенерацию конечности, создавая условия, препятствующие прорастанию нервных волокон в эпителий конца культы (18). У наземных позвоночных таким препятствием может оказаться быстрое рубцевание ампутационной поверхности как следствие высокоразвитых восстановительных свойств соединительной ткани.

В этой связи уместно сослаться на экспериментальное исследование, в котором многократное удаление кожи с ампутационной поверхности конечности ящерицы, препятствуя рубцеванию раны, способствовало осуществлению регенерационного процесса (10).

Дополнительная иннервация может служить одним из способов стимуляции регенерационного процесса конечности.

Харьковский государственный университет
им. А. М. Горького

Поступило
23 VI 1961

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ М. А. Воронцова, Л. Д. Лиознер, Бесполое размножение и регенерация, М., 1957. ² Н. С. Еремеев, Бюлл. эксп. биол. и мед., 43, № 6, 83 (1957). ³ Л. Н. Жинкин, Г. Ф. Корсакова, ДАН, 81, № 5, 965 (1951). ⁴ В. П. Кудокоев, ДАН, 126, № 5, 1141 (1959). ⁵ Н. В. Насонов, Добавочные образования, развивающиеся при вложении хряща под кожу взрослых хвостатых амфибий, Изд. АН СССР, 1941. ⁶ Л. В. Полежаев, Тр. Инст. цитол., гистол. и эмбриол. АН СССР, 2, в. 2 (1948). ⁷ А. Н. Студитский, Экспериментальная хирургия мышц, Изд. АН СССР, 1959. ⁸ Б. П. Токин, Регенерация и соматический эмбриогенез, Л., 1959. ⁹ Э. Е. Уманский, ДАН, 52, № 7, 647 (1946). ¹⁰ Э. Е. Уманский, В. П. Кудокоев, ДАН, 61, № 4, 757 (1948). ¹¹ И. И. Шмальгаузен, Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии, Изд. АН СССР, 1942. ¹² S. Inoue, Endocrinol. Japon., 5, № 1, 21, (1958). ¹³ В. Коніесна—Marczyńska, A. Skowron—Cendrzak, Folia Biol., 6, № 1, 37 (1958). ¹⁴ J. Milaire, Arch. biol., 68, № 3, 429 (1957). ¹⁵ S. M. Rose, J. Morphol., 77, № 2, 119 (1945). ¹⁶ M. Singer, J. Exp. Zool., 126, № 3, 419 (1954). ¹⁷ J. M. van Stone, J. Morphol., 97, № 2, 345 (1955). ¹⁸ Ch. S. Thornton, J. Exp. Zool., 127, № 3, 577 (1954). ¹⁹ Ch. S. Thornton, J. Exp. Zool., 134, № 2, 357 (1957).