

ПОЛЕЖАЕВ Лев Владимирович — один из известных советских экспериментальных морфологов, более 40 лет разрабатывающий проблему регенерации. Автор 250 научных трудов, в том числе шести монографий, из которых две опубликованы в США на английском языке. Член Международного общества биологов развития. В течение многих лет заведовал лабораториями в институтах Академии наук СССР. Под руководством Л. В. Полежаева выполнено 300 научных работ, в том числе ряд диссертаций.

Л. В. Полежаев — автор открытия «Закономерность утраты и восстановления регенерационной способности конечностей у позвоночных», внесенного в Государственный реестр открытий СССР (1974). Основные работы Л. В. Полежаева посвящены разработке проблемы утраты и восстановления регенерационной способности органов и тканей у животных.

Полежаев Л. В.

П 49 Регенерация. М., «Знание», 1977.

64 с. (Новое в жизни, науке, технике. Серия «Биология», 6. Издается ежемесячно с 1967 г.)

Основное внимание в брошюре обращено на наиболее интересную и вместе с тем наиболее сложную проблему — утраты и восстановления регенерационной способности органов и тканей у животных и человека. Рассмотрены основные понятия, закономерности, принципы регенерации и результаты конкретных исследований искусственного получения регенерации ряда органов и тканей у позвоночных животных и человека, обычно не восстанавливающихся при их повреждении или ампутации. Приведены данные о получении регенерации конечностей у амфибий и у некоторых позвоночных, костей свода черепа и мышцы сердца у млекопитающих, а также нервной ткани у позвоночных. Очерчены перспективы дальнейших исследований.

21003

57,022

© Издательство «Знание», 1977 г.

Введение

Вероятно, каждый человек еще в детском возрасте с удивлением узнает, что если схватить ящерицу за хвост, то он отрывается, а позднее восстанавливается, регенерирует. В связи с этим, видимо, у каждого ребенка или взрослого человека возникает вопрос, почему же это происходит. Почему у человека и других животных не вырастают по тем или иным причинам утраченные руки, ноги или хотя бы пальцы? Почему ящерицы обладают таким ценным, изумительным даром, а другие животные — не обладают? И далее закономерно возникает ряд других вопросов: только ли хвост у ящерицы может вырасти после его утраты или и другие органы, например конечности? Есть ли, кроме ящериц, животные, которые могут регенерировать утраченные органы? Есть ли у людей какие-либо органы, которые могут восстанавливаться после утраты? И наконец, нельзя ли у человека каким-либо путем вызвать восстановление утраченных органов или их участков?

Ставя эти и другие сходные вопросы, исследователь стремится познать неизвестные ему закономерности, разработать теорию, и вместе с тем он поднимает чисто практические вопросы, ответ на которые может повлиять решать многие важнейшие проблемы здоровья. Допустим, в связи с каким-либо несчастным случаем, ранением или болезнью человек утратил ногу, палец, глаз, ухо или сильно повредил череп, мозг или сердце, нельзя ли в этих случаях восстановить утраченные органы или ткани?

Эти непосредственно и даже наивно поставленные вопросы естественны, но для того, чтобы ответить на них, необходимо познакомиться с интересующим нас

предметом значительно **глубже**. Прежде всего необходимо **четко** **выяснить**, что такое **«регенерация»**, что известно биологам или медикам, изучавшим **этот предмет**? Каковы **основные** закономерности и правила регенерации? Каков механизм этого **загадочного** явления? Возможно ли изменить ход процесса регенерации органа и можно ли искусственно вызвать ее у тех особей, у которых она не происходит при обычных условиях утраты органа? Каковы в настоящее время основные обобщения, сделанные в области учения о регенерации?

Явление регенерации интенсивно изучали и изучают как у нас в Советском Союзе, так и за рубежом. Исследования проводят в **двух** основных направлениях: медицинском и биологическом. Врачи изучают регенерацию некоторых органов и тканей у людей при различных повреждениях, например, при костных переломах, при ожогах и ранениях кожи, при повреждении мышц или нервов и в других случаях. При этом для эксперимента они привлекают животных, достаточно близких к человеку, — млекопитающих: мышей, крыс, кроликов, морских свинок, кошек, собак, обезьян и др. Биологов, в основном, интересуют другие вопросы: каковы закономерности регенерации в мире животных, каково распространение явлений регенераций у животных и т. д. Биологи работают на животных различных видов, и главным образом на тех, которые обладают способностью к регенерации; это многие низшие беспозвоночные и позвоночные; гидры, ресничные черви — планарии, тритоны, аксолотли, морские звезды и др.

Первым в учении о регенерации возникло медицинское направление. Начало его возникновения относится к самому древнему периоду человеческой деятельности — к моменту зарождения медицины в связи с практически важным вопросом, как помочь человеку при его увечье или заболевании, сопровождающимся повреждением или утратой некоторых органов или тканей. Биологическое направление возникло значительно позже, 200—300 лет назад. Момент его зарождения связывают с исследованием французского естествоиспытателя Р. А. Реомюра (1712) по регенерации клешней у раков и швейцарского натуралиста А. Трамбле (1740) по регенерации у гидр.

Медицинское и биологическое направления очень долго развивались совершенно независимо друг от друга и лишь в последние десятилетия, начиная с конца 40-х годов нашего века, стали сближаться. Начало их сближения связано с постановкой вопроса, что могут дать биологи, занимающиеся изучением регенерации, медицинской практике и возможно ли получить регенерацию органов у человека. Такая постановка вопроса принадлежала советским биологам, и это направление исследований, в основном, стало развиваться в Советском Союзе. Зарубежные ученые только в последние годы стали проявлять активный интерес к исследованиям такого рода. В СССР исследования по регенерации проводят во многих институтах и лабораториях: в системе Академии наук СССР, в системе Академии медицинских наук СССР, в лабораториях кафедр биологии, гистологии, патологической анатомии медицинских институтов и университетов, на некоторых морских биостанциях. Значительные результаты при изучении явлений регенерации достигнуты в лабораториях, возглавляемых профессорами Л. Д. Лиознером, А. Н. Студитским, А. А. Войткевичем, Б. П. Солопаевым, А. А. Брауном, В. П. Михайловым, Г. С. Стрелиным, А. И. Бухоновой, Г. В. Хомулло, и в некоторых других.

В связи с обширностью предмета и ограниченностью рамок настоящей брошюры ее задача поставлена вполне определенно и ограничено. Акцент сделан на проблеме искусственного получения регенерации органов и тканей у тех животных и человека, у которых она обычно не происходит.

Понятие регенерации

Существует много различных определений понятия регенерации. Мы будем здесь придерживаться одного, которое наиболее широко распространено и принимается большинством исследователей. Под регенерацией понимают восстановление или возрождение утраченной части тела организма, по своей структуре соответствующей утраченной.

Возможно восстановление целого организма, больших его частей, содержащих несколько органов, от-

дельных органов, частей органов, тканей, **клеток** и даже частей **клетки**, как, например, отростков нервных клеток. Соответственно этому **регенерацию** можно изучать на уровне целого организма, органов, тканей и клеток. Возможно изучать регенерацию и внутри клеток, на субклеточном, молекулярном или химическом уровне. Однако в этом случае речь идет уже о **качественно** новой форме восстановления или обновления клеток, которое к истинной регенерации отнести трудно. В организме **последней самостоятельной единицей** является клетка, а не отдельные ее части или **органеллы**, как бы важны они ни были, **потому** что их обновление всегда происходит **зависимо** от **жизни** и развития клетки, а не как нечто самостоятельное.

Общепринято различать две основные формы регенерации: физиологическую и репаративную. Пол первой понимают процесс восстановления, происходящий после снашивания и утраты элементов организма в его естественной, физиологической жизни. Ежедневно, ежедневно и ежеминутно в организме животного и человека происходит изнашивание клеток эпидермиса кожи, эпителия слизистой желудка и кишечника, форменных элементов крови и других клеток. При этом происходит их **восстановление**, образование таких же новых элементов, благодаря чему организм сохраняет свою целостность и поддерживает свою нормальную жизнедеятельность.

Физиологическая регенерация — явление универсальное, свойственное всем живым **организмам**: микро-**организмам**, растениям, животным и человеку. Оно встречается в самых различных органах и **тканях**, но в разной степени и форме. В последние десятилетия стало принято подразделять клетки тканей животных организмов и человека на три основные группы: лабильные, стабильные и статические. К лабильным относят такие клетки, которые быстро и легко обновляются. В процессе нормальной жизнедеятельности организма, к ним относятся клетки крови, эпителия слизистой желудочно-кишечного тракта, **эпидермиса** и др.

К стабильным клеткам относят клетки таких органов, как печень, **поджелудочная железа**, слюнные железы и др. Стабильные клетки обнаруживают **ограниченную** способность к размножению, которая проявляется обычно при повреждении данного органа. И на-

конец, к **статическим** относят клетки поперечно-полосатой мышечной и **нервной** тканей. Клетки статических тканей, как **считает большинство исследователей**, не делятся. **Особенно** на этом настаивают, говоря о клетках нервной ткани. В отношении мышечной ткани за последние 10 лет взгляд несколько **изменился**, ибо были **открыты** так называемые клетки-сателлиты, находящиеся **под оболочкой**, или сарколеммой, мышечного **волокна**, которые способны погружаться внутрь **волокна**, делиться и **превращаться** в ядра и цито- или саркоплазму мышечного волокна ¹.

В процессе физиологической регенерации участвуют так называемые **камбиальные** клетки ², т. е. наименее **дифференцированные** или наименее специализированные, дающие начало постепенно дифференцирующимся или специализирующимся клеткам. Например, камбиальными **клетками** эпидермиса кожи являются клетки **базального** слоя.

Под **репаративной регенерацией** понимают восстановление органов или тканей после их насильственного **повреждения**, например, ампутации или другого рода **воздействий**. Репаративная регенерация протекает **при** совершенно **иных условиях**, чем физиологическая. После **насильственного** повреждения всегда образуется очаг повреждения или рана, **резко** нарушается **нормальное** соотношение и состояние тканей в области **раны**. Нарушается также функция органа. В **последнее** время некоторые исследователи стали понимать под регенерацией совокупность разных явлений воспроизведения живого и стали относить к ней гипертрофию, **рубцевание**, полиплоидию и даже выздоровление после таких заболеваний, как грипп, а также внутриклеточное обновление и обмен веществ. При таком широком понимании регенерации исчезает ее **специфика** и становится невозможным установить ее **закономерности**.

Гипертрофия — это увеличение или восстановление массы органа, вызванное усилением его функции. **Об-**щезвестно увеличение мышц при их тренировке **у**

¹ См.: А. Н. Студитский. Загадки формообразования. М., «Знание» 1977. ² Камбий — это ростковый слой дерева, дающий начало росту и размножению других слоев.

спортсменов, увеличение объема и массы мышцы сердца при повышенной нагрузке на сердце. При удалении части печени от ампутационной раневой поверхности роста органа не происходит, структура печени не восстанавливается, но масса органа компенсаторно быстро **возрастает** и может с течением времени **достигнуть** 80% первоначальной массы. При этом восстанавливается функция печени. Гипертрофия **играет весьма** важную роль в жизни животных и человека, но протекает она по иным законам, чем регенерация, по законам, близким к законам роста. Однако некоторые исследователи (М. А. Воронцова и Л. Д. Лиознер, 1955; 1957) сближают гипертрофию с регенерацией и называют гипертрофию, наблюдающуюся после **удаления** части органа, например, печени, «регенерационной гипертрофией».

В тех случаях, когда после ампутации орган не регенерирует, в области повреждения образуется рубец, т. е. **разрастание** грубой соединительной ткани, а, не утерянной специфической части органа. **Рубцы** играют важную роль в жизни животного организма, позволяют **восстановить** нарушенную целостность и функцию органа. Однако процесс рубцевания протекает по иным законам, чем регенерация, и всегда свидетельствует об **ее** **отсутствии**.

Такие заболевания, как грипп или свинка, конечно, всегда сопровождаются **известным** повреждением разных **элементов** организма человека, но **относятся** к категории иных явлений, чем регенерация. Закономерности регенерации и течения или развития болезней **различны**. Обмен **веществ** происходит в любых процессах жизни и воспроизведения живого, а не только при регенерации. **Поэтому регенерацию нельзя отождествлять с обменом** веществ.

В каком отношении находятся физиологическая и репаративная регенерация? Одно время некоторые исследователи **полагали**, что **физиологическая регенерация** является основой репаративной. **Однако это спорно**. В некоторых случаях, например, при регенерации крови после кровопотери, это будет действительно так, но в других случаях наблюдается иное. Например, при ампутации конечности у крысы регенераций **ее** не происходит, между тем как процессы физиологической регенерации в тканях остатка органа протекают так же,

как и до ампутации. Есть основание считать, **что** основой для физиологической и репаративной регенерации, но в разной форме является обмен **веществ**. Однако к этому мы еще вернемся ниже.

Последнее, что здесь следует **отметить**, это различие между регенерацией и **регенерационной** способностью. Регенерация есть процесс, действительность; способность к регенерации есть возможность протекания процесса, возможность. Способность к регенерации может быть, а процесса регенерации может не **последовать**, если исключить какое-то **необходимое условие**, например, денервировать орган или зашить рану **кожей**. С другой стороны, отсутствие способности к регенерации еще не означает, что **нельзя** создать такие **условия**, при которых будет возможно получить процесс **регенерации**, восстановить утраченную **регенерационную способность**.

Основные закономерности, или правила регенерации

Основные закономерности регенерации были сформулированы более 100 лет назад Чарлзом Дарвином и некоторыми гистологами в виде трех правил. Ч. Дарвин (1868) в своей книге «**Изменение** домашних животных и культурных растений в домашнем состоянии» обобщил имевшиеся к тому времени **факты**, полученные **при** изучении **регенерации**, в виде **двух** правил. Он писал: «Как общее правило, животные, стоящие на **низкой** ступени развития, гораздо легче восстанавливают утраченные части, **чем** животные, организованные выше»; «у высших позвоночных, например, у **птиц** и млекопитающих, эта способность крайне **ограничена**». И **тут** же он **замечает**: «Но из него есть странные **исключения**: например, **немертины**, хотя и низко организованные, говорят, обладают способностью **восстановления** лишь в слабой мере». Это первое правило регенерации сохранило свою силу и поныне. Однако оно **является** только правилом, а не законом, так как **число исключений** из него весьма велико, что дало основание некоторым исследователям отрицать его.

Второе правило регенерации также было сформулировано Ч. Дарвином (1868); «Способность к **восстанов-**

лению обыкновенно гораздо сильнее в молодом возрасте животного или в ранних стадиях развития, чем в зрелости». Это правило было принято большинством биологов и патологоанатомов, но также является не законом, потому что имеется ряд исключений из него. Это правило, по биогенетическому закону Дарвина — Мюллера — Геккеля (согласно которому в ходе индивидуального развития в видоизмененной форме повторяются или рекапитулируют некоторые фазы эволюционного развития), является известным отображением первого правила. Оно также было подвергнуто сомнению некоторыми исследователями в связи с наличием исключений из него.

Третье правило было сформулировано некоторыми биологами одновременно с первыми двумя дарвиновскими правилами. Оно гласит: при регенерации каждая ткань образует себе подобную. Однако и это третье правило имеет известные исключения и поэтому, так же, как и первые два, законом не является.

В связи со сказанным возникает вопрос, существует ли общая закономерность регенерации? На этот вопрос разные исследователи отвечают по-разному. А. Н. Студитский (1964) пришел к выводу, что чем выше организация животных, тем выше у них способность к регенерации. Однако с этим мнением не соглашается большинство исследователей, потому что оно не согласуется со многими фактами. Л. Д. Лиознер (1962, 1975) утверждает, что нет общей закономерности регенерации. Автор этих строк пришел к выводу, что общая закономерность регенерации есть и может быть понята на основе учения А. Н. Северцова (1934) о различных направлениях эволюции.

По А. Н. Северцову, процесс эволюции идет путем прогресса, усовершенствования организации; путем прогресса, упрощения организации, и путем идиоадаптации, т. е. эволюции на одном уровне, но в разных направлениях. Причем во всех трех случаях эволюция идет путем приспособления. Можно предполагать, что при прогрессе, повышении организации происходит повышение способности к репаративной регенерации. При регрессе, понижении организации животных происходит понижение регенерационной способности. И наконец,

при идиоадаптации способность к регенерации может различным образом варьировать.

Общая закономерность регенерации выражается в том, что изменение регенерационной способности всегда будет зависеть от изменения условий среды или условий развития. Сказанное станет особенно ясным, если понять, что способность к регенерации — это одна из форм приспособительного самовоспроизведения животного, основанного на обмене веществ и обусловленного непрерывным повреждением живого. Предлагаемое обобщение, названное нами основным законом регенерации, включает в себя все три старых правила регенерации и все исключения из них. Кроме того, оно указывает, как можно направленно экспериментально изменить регенерационную способность, для чего надо направленно изменить обмен веществ живого организма. Сделанное обобщение показывает, что старые правила не вымысел, не ошибка, не законы и не абсолютно истинна, а относительная истина, которая непрерывно изменяется по мере обогащения знаний о предмете.

Предлагаемое новое обобщение, как мы полагаем, совершеннее старых, но также не абсолютно и также со временем должно быть заменено другим, более совершенным.

Закономерность ослабления и утраты регенерационной способности у животных

Возможно, во многих, а то и подавляющем большинстве случаев способность к репаративной регенерации органов у животных ослабляется или утрачивается в эволюционном и онтогенетическом рядах¹. Этот процесс не может быть случайным, так как он закономерно и постоянно повторяется из поколения в поколение. Он связан с процессом прогрессирующей эволюции, с усложнением организации животных. Тот же процесс повторяется и в онтогенезе животных. У низших беспозвоночных животных, например, у одноклеточных (или неклеточных) — амёб, инфузорий и у многих много-

¹ Онтогенез — процесс индивидуального развития организма от яйца до старости и смерти.

клеточных — у гидр, планарий, морских звезд, асцидий и **некоторых других** возможна **регенерация** целой особи из ее небольшой части. Процесс подобен бесполому размножению путем деления или почкования, которое наблюдается у этих видов животных. Это сходство давно было замечено зоологами и его значение подчеркнул М. А. Воронцова и Л. Д. Лиознер (1957).

У более высокоорганизованных **животных**, таких, как членистоногие или низшие позвоночные, целый организм **никогда не может восстановиться** из части его тела. **Регенерационная** способность ограничивается: у них возможна регенерация только отдельных органов. У печных раков могут регенерировать **клешни**, у тараканов в процессе их линьки — конечности. У хвостатых амфибий — тритонов, аксолотлей, саламандр — к регенерации способны **конечности**, хвосты, плавники, жабы и другие органы. У высших позвоночных — млекопитающих и человека — способность к регенерации органов, таких, как конечности, пальцы, глаза, уши и др., крайне **ограничена**: после ампутации этих органов возникает только рубец, и культя гладко заживает.

Подобная закономерность наблюдается также и в процессе онтогенеза, как бы повторяя в какой-то мере эволюционную **закономерность**. У молодых животных (у **молодых** аксолотлей и тритонов, у щенков и* детей) процессы регенерации или заживления ран либо костных переломов **происходят гораздо быстрее**, чем, у взрослых, а тем более старых особей. Однако дело **этим** не ограничивается. В конце прошлого века у одной группы животных — **бесхвостых амфибий** (лягушки жабы желянки) было открыто свойство полностью **восстанавливать конечности** и некоторые другие органы (например, хвост, жабы и др.) в личиночном состоянии и утрату этой способности во взрослом состоянии. Способность к регенерации органов у этой группы животных утрачивается в процессе их онтогенеза. В этом случае особенно наглядно проявляется **биогенетический закон**: личинки бесхвостых амфибий — головастики обладают хвостом, жабрами и некоторыми другими органами, которые исчезают при метаморфозе и у взрослых особей. При этом они как бы повторяют эволюционное развитие: их **отдаленные** предки, сходные с хвостатыми амфибиями, и во взрослом со-

стоянии обладали всеми указанными выше органами, В процессе этого превращения изменяется также и способность к регенерации, вначале она **высока**, а потом утрачивается. Подобное явление, как мы увидим ниже на конкретном примере, наблюдается также и у млекопитающих.

По мере повышения организации в процессе эволюции и в процессе онтогенеза происходит, с одной стороны, усложнение организации, усовершенствование строения и функции животных, с другой — утрата ими превосходного приспособления — высокой способности к регенерации органов. Животные как бы расплачиваются потерей **способности** к регенерации за **приобретение** ими высокой степени усовершенствования в их организации и функциях. И высота организации и способность к регенерации суть не что **иное**, как **приспособления**. Таким образом, в ходе эволюции происходит смена приспособлений: одни утрачиваются, другие приобретаются. При этом не наблюдается непрерывного наращивания одних приспособлений на другие или их суммирования.

Возможно ли восстановить утраченную регенерационную способность у животных и человека?

В тех случаях, когда имеется прогресс эволюции и **утрата** способности к регенерации, по существу, у всех животных на какой-то ступени их индивидуального развития способность к **регенерации** выражена **достаточно хорошо**, а потом она снижается. Поэтому можно думать, что бесхвостые **амфибии** не являются какой-то особой группой животных, стоящей особняком среди остальных. Видимо, имеется **один эволюционный ряд** животных, **которые** различаются по своей способности к регенерации. У одних она сохраняется в течение **всей жизни**, у других имеется длительное время в течение их онтогенеза, у третьих она исчезает на очень ранней стадии их индивидуального развития. Но раз способность к регенерации у животного **когда-то была**, то **спрашивается**, нельзя ли ее восстановить? Наиболее правильно было бы **проверить** это в **прямом эксперименте**,

Вопрос о том, возможно ли вызвать регенерацию при обычных условиях нерегенерирующих органов и тканей у **млекопитающих** и человека — это основной и вместе с тем самый трудный в учении о регенерации. Его трудно разрешить эмпирически, т. е. путем слепых экспериментальных попыток. Для его разработки и разрешения **необходимо** не только знать фактический материал, но и наметить правильный подход к делу. При недостаточно обоснованном подходе, недостаточной разработке вопроса попытки восстановить **утраченную регенерационную способность** органов у животных и человека **были** неудачны. Вот некоторые примеры из **исследований** такого рода.

Знаменитый американский зоолог Томас Морган, на заре своей научной деятельности много занимавшийся **исследованием регенерации** в мире животных, в 1901 г. **опубликовал** первую биологическую монографию по этому предмету — «Регенерация». Позднее он перешел к исследованию явлений наследственности и **создал** хромосомную теорию наследственности. Мы уже отмечали, что у лягушек конечности не способны к регенерации. Морган (1908 г.) предположил, что регенерационная способность органов определяется их ферментативными свойствами. В этой связи он сделал попытку вызвать регенерацию конечностей у взрослых лягушек, пересаживая на культю этих органов ткани хвостов головастиков, способных к регенерации. Однако получить регенерацию конечностей ему не удалось.

Крупный немецкий хирург Август Бир (1923) предположил, что ткани у всех животных и человека потенциально способны к регенерации и что надо только проявить эту способность. Для этой цели он произвел операцию у ребенка, у которого удалил поврежденную малую берцовую кость и пересадил на ее место раздробленную кость собаки. Однако удаленная кость не **восстановилась**.

Известный австрийский зоолог Пауль Вейс (1930) высказал предположение, что отсутствие способности к регенерации органов у животных обусловлено **исчезновением** особого фактора — «морфогенетического поля». Вейс, несколько модифицируя идею А. Г. Гурвича (1922), развил теорию, что процесс формообразования в онтогенезе животных и, в частности, в процессах регенерации определяется действием на клетки, которые,

по его мнению, сами по себе лишены каких-либо организационных потенций («нуллипотентны»), особого динамически преформированного фактора «поля». «Поле» каким-то образом связано с живым материалом, но не зависит от него и развивается по своим законам, подчиняя себе при этом клетки и создавая в них способность к организации. Теорией «поля» он пытался объяснить одно неизвестное — процесс онтогенетического формообразования введением другого неизвестного — «поля», приписывая ему те свойства, которые надо было бы открыть в самом живом развивающемся материале.

Вейс сделал попытку провести известный эксперимент с целью проверить свою идею. Он ампутировал хвосты у ящериц и пересадил их регенерационные зачатки (бластемы) на ампутационные раневые поверхности конечностей, которые не способны к регенерации. Если бластемы были очень молодыми, то никакого развития их не происходило, и конечности не регенерировали. Если бластемы были более развитыми, то из них на месте конечностей развивались хвосты. Вейс заключил, что неспособность к регенерации конечности у ящерицы обусловлена отсутствием или исчезновением «поля». Между тем для такого вывода нет достаточного основания. Работами советских, а затем и зарубежных исследователей было установлено, что ткани и клетки животных, например, конечностей у тритонов и аксолотлей, обладают собственными организационными потенциями, от которых и зависит течение процесса регенерации.

Мы видим, что попытки вызвать регенерацию при обычных условиях повреждения нерегенерирующих органов у животных и человека оказались неудачными. Однако это не значит, что проблема неразрешима. При ином подходе к ней оказалось, что ее можно разрешить. Первые опыты в этом направлении были поставлены по регенерации конечностей у некоторых позвоночных, о чем будет сказано в последующем разделе. Однако до изложения результатов этих опытов следует кратко сказать о некоторых теоретических обобщениях или принципах, которые позволяют наметить пути для разработки интересующей нас проблемы.

Некоторые принципы регенерации

Изучение **регенерации** методами морфологии и биохимии **позволило** сформулировать некоторые принципы, знание которых весьма важно для определения подхода к проблеме утраты и восстановления **регенерационной** способности органов и тканей у животных. Тех правил регенерации, о которых сказано **выше**, было недостаточно для постановки и разработки данной проблемы.

Если принять то положение, которое было названо нами основным законом регенерации, то **тогда** **оказывается**, что **при** изменении условий есть основания пытаться получить регенерацию органов у животных в тех **случаях**, когда При обычных условиях повреждения они не регенерируют. Но все же и при этом **необходимо** знать, в каком направлении надо **изменить** условия, чтобы добиться желаемого результата. Вот об этом могут многое сообщить те **принципы**, о которых было упомянуто выше.

Принцип **стадийности**. Наиболее правильно изучать процесс регенерации соответственно его последовательно возникающим стадиям. Такой подход позволяет **не только** описать ход процесса, но и исследовать причины перехода одной стадии в другую. Вначале были выделены морфологические стадии (Спейдель, 1928; М. И. Ефимов, 1931) при изучении процесса регенерации хвостов у амфибий. Их оказалось три- 1) эпителизация раневой поверхности органа; 2) накопление гистологически недифференцированного **регенерационного** материала и 3) рост и **дифференцировка** последнего. Однако такой подход **недостаточен для изучения** физиологии регенерации, которая определяет возникновение новой формы. Поэтому использовали данные биохимических исследований многих авторов, и **на их основе** сделали некоторые новые **обобщения**.

В каждом процессе регенерации можно выделить три физиологические **стадии**, из которых наиболее изучены две **первые**. Эти **стадии** различаются по **своему** метаболизму **или** типу обмена веществ: 1) стадия **разрушения** и **дифференцировки**, которая **биохимически** характеризуется протеолизом, т. е. преобладанием распада белка над его синтезом, снижением нуклеинового обмена, гликолизом, снижением рН или активной **реак-**

ции внутренней среды. В этот **период** в очаге **повреждения** происходит **накопление гистологически недифференцированного материала**; 2) **стадия** роста и **дифференцировки**, которая **биохимически** характеризуется преобладанием синтеза белка над его распадом, повышением нуклеинового **обмена**, аэробным типом дыхания, возрастанием рН. Третья физиологическая стадия мало изучена и мы ее не характеризуем.

Экспериментальные исследования показали, что **У** животных, не способных к регенерации органов (**например**, конечностей), после **ампутации** органов основные ткани, составляющие орган (например, мышцы, хрящевой скелет, соединительная ткань), слабо разрушаются и практически не дедифференцируются. На раневой поверхности происходит гладкое заживление рубцом, регенерации не **происходит**. При **ампутации** конечностей, способных к регенерации, упомянутые ткани в области раневой поверхности сильно **разрушаются** и дедифференцируются, в результате в области раны возникает регенерационный зачаток, который далее **растет**, **дифференцируется** и превращается в конечность.

Отсюда был сделан вывод, что при утрате **способности** к регенерации конечностей сильно уменьшается первая физиологическая стадия регенерации и **что** суть дела состоит в **том**, чтобы **восстановить** ее и тем самым вызвать регенерацию конечностей. При этом знание **биохимической стороны** вопроса позволяет биохимическими методами регулировать процесс регенерации. **Например**, можно было бы усилить процессы **протеолиза** или процессы синтеза нуклеиновых кислот и, таким образом, попытаться восстановить утраченную **регенерационную** способность.

Принцип органоспецифичности. Этот принцип очень важен **для** понимания того, каким образом можно было бы повлиять **на** регенерационную **способность** не всех, а определенного _ интересующего нас органа с целью усилить или восстановить ее и получить регенерацию данного органа.

Согласно принципу **органоспецифичности** **способность** к регенерации различна в разных органах тела животного и характеризуется их специфическим молекулярным составом и обменом веществ. При этом **одноименные** или гомологичные органы, например печень или **конечности у млекопитающих**, обладают сходным

молекулярным **составом и сходным** обменом веществ даже при наличии видовых различий. Поэтому вещества, полученные из определенного органа, **при** их подкожном или **внутримышечном введении** животному того же или другого вида будут действовать **преимущественно** на одноименный **орган**. Причем малые **дозы**, как было установлено в опытах, **стимулируют**, а большие тормозят процессы роста или регенерации органа. Эксперименты с **применением** ряда методов, в частности метода радиоактивных изотопов или **меченых** атомов, подтвердили данное положение. Опыты были **поставлены** как на зародышах амфибий и **птиц**, так и на взрослых животных: **амфибиях** и млекопитающих.

Природа веществ, которыми можно повлиять на развитие и регенерацию тех или иных органов исходя из **принципа** органоспецифичности, **полностью** не раскрыта. По-видимому, она может быть различной. Методами иммунологии точно доказана специфичность **белков органов**. С другой стороны, показано, что **органоспецифичность** может быть связана с рибонуклеиновыми кислотами (РНК), которые определяют непосредственный синтез белков. Наконец, есть данные о том, что **органная специфичность** может быть связана с некоторыми полисахаридами.

Для нас здесь важен **основной** вывод: исходя из принципа органоспецифичности можно направленно повлиять на течение регенерации органов у **животных**.

Принцип наследственности. Способность к регенерации — наследственно обусловленное свойство. То обстоятельство, что аксолотли и тритоны могут, а мыши и крысы не могут регенерировать конечности, определяется их наследственностью. Это положение в высшей степени важно, так **как направляет** мысль исследователей на то, чтобы, используя законы наследственности, повлиять на ход развития, каковым является **регенерация**.

Регенерация есть повторное развитие. В **принципе** проблема управления регенерационной способностью может быть разрешена, если мы познаем пути **направленного** изменения **наследственного аппарата** клетки. Однако несмотря на то что мы еще не можем направленно влиять на генетический аппарат клетки, а отсюда на процессы онтогенетического формирования и регенерацию, все же состояние науки таково, что в **об-**

щем виде может быть намечен ход или **план** исследования,

Современные **молекулярная биология** и молекулярная генетика постулируют, что биосинтез белков, лежащих в основе развития, протекает по формуле: ДНК — РНК — белок. Это значит, что молекулы ДНК определяют возникновение молекул РНК, а последние — молекул белков при наличии определенных ферментов и условий среды. Такова в самых грубых чертах схема процесса самовоспроизведения белков и **нуклеопротеидов**, лежащих в основе развития и регенерации. Молекулы ДНК составляют основу наследственного аппарата клетки. Поэтому для специфического воздействия **на процесс** регенерации следовало бы специфически повлиять на молекулу ДНК. Сделать это в принципе возможно, хотя и нелегко, **но** применительно к явлениям регенерации у многоклеточных такая попытка не предпринималась. В настоящее время проще повлиять на другие звенья указанного процесса синтеза белка, например на молекулу РНК. И попытки **такого** рода уже предпринимаются.

Исследователи выделяют РНК из определенных органов животных и, вводя их под кожу другим животным, делают попытки повлиять на процессы восстановления в этих органах. Некоторые исследователи пытаются таким образом воздействовать на патологически измененные органы, например на органы слуха при глухоте (**отосклероз**), и лечить людей. Здесь **следует** отметить, что полностью очистить молекулы РНК от белка очень трудно и в процессе этой очистки активность РНК снижается. Поэтому некоторые исследователи стали склоняться к мысли, что активность связана с белком или **нуклеопротеидом (белок+РНК)**, а не с молекулой РНК. В этом направлении ведутся интенсивные исследования.

В настоящее время уровень науки таков, что еще рано ставить вопрос об изменении способности к регенерации органов через генетический аппарат клетки и пытаться вызвать направленное изменение в ряде поколений. Более реально другое: изменить наследственно обусловленную способность к регенерации у данного животного, влияя на процесс регенерации **путем** изменения протеолиза, нуклеинового обмена, процессов дыхания, гликолиза и др.

Знание принципов регенерации важно прежде всего потому, что оно позволяет найти нужный подход к проблеме **управления процессами** регенерации с современных биологических позиций.

Происхождение регенерационного материала. Понятие дедифференцировки

При исследовании процессов **регенерации** очень важно выявить источники **происхождения** регенерационного материала. На **первый взгляд** такого рода вопрос может **показаться** странным, поскольку, согласно третьему правилу регенерации, постулируется, что каждая **ткань** при регенерации **происходит** от себе подобной (эпителий от эпителия, мышцы от мышц, нервы от нервов и т. д.). Однако в **действительности** дело обстоит **гораздо сложнее**. Во-первых, в процессе регенерации очень изменяется состояние и морфологический вид **тканей** и клеток и часто бывает **невозможно** без применения особых методов определить, каково происхождение появившихся клеток. Во-вторых, **возможно** изменение и превращение **одной** ткани в другую. Такое явление принято называть **метаплазией**.

Явление **метаплазии** очень интересует многих морфологов — биологов и патологоанатомов, и его исследованию посвящено **много** работ. Если раньше, в конце XIX и начале XX в. господствовала теория отрастания при регенерации, т. е. **считалось**, что каждая ткань продуцирует только себе подобную, то уже начиная со второго десятилетия XX в., после тщательной гистологической работы К. Фрича (1911), в которой изучалась **регенерация** конечностей у аксолотлей, положение изменилось. Было установлено, что на раневой поверхности конечности под эпителием образуется **регенерационный** зачаток, или **бластема**, в которой клетки имеют вид эмбриональных, причем все они морфологически **сходны**, неотличимы друг от друга и резко отличны от старых тканей остатка органа. **Происхождение** этих клеток было загадочно. **Предполагали**, что они возникают из лейкоцитов крови, из эпителия, из клеток, соединительной ткани, из **мышц**, из **особых** резервных клеток, находящихся в организме и проявляющихся при регенерации и т. д.

Одно описательное гистологическое исследование процесса **регенерации органов** оказалось недостаточным **для того**, чтобы **выяснить** источник происхождения регенерационных клеток, потому что в этом **случае** исследователи неизбежно впадали в субъективизм. Одним казалось, что клетки бластемы происходят от изменившихся клеток эпителия, другим — что они возникают от изменившихся клеток **соединительной** ткани и т. д. К этому надо прибавить, что при регенерации у представителей ряда беспозвоночных были установлены **особые** индифферентного вида клетки, не относящиеся к каким-либо развитым или дифференцированным тканям, так называемые резервные клетки. У гидр были обнаружены интерстициальные, или **и-клетки**, находящиеся под эктодермой и принимающие участие в образовании почек **гидры** при почковании. У планарий и дождевых червей были найдены клетки индифферентного типа, подобные эмбриональным клеткам, которые получили название **необластов**. Таким образом, возникла теория **происхождения** регенерационного материала из резервных клеток.

Вопрос значительно прояснился при применении некоторых экспериментальных методов. Из них особенно большое значение имели метод комбинирования нормальных и облученных рентгеновыми лучами тканей и метод **прижизненной** маркировки клеток с помощью **некоторых** красителей, а также метод **меченых атомов**. Известно, что лучи Рентгена в определенной дозе **тормозят** и полностью подавляют процессы регенерации у животных разных видов, причем это действие лучей очень стойко. Э. Е. Уманский (1937) **предложил** после облучения органа (конечности аксолотля) и подавления его способности к регенерации пересаживать на облученный орган взамен некоторых его компонентов, например, кожи, скелета или мышц, одноименные **необлученные** компоненты. Таким образом, ему **удалось** показать, что пересаженные необлученные ткани могут быть источником регенерационного материала. Например, если ампутировать облученную конечность **аксолотля** после пересадки на нее необлученной кожи **конечности**, то происходит регенерация конечности из **пересаженных** тканей. Так было доказано, что практически **каждая** ткань органа участвует в **процессе** его регенерации,

Эпителий образует только эпителий, а мышцы, соединительная ткань и скелетные элементы могут быть источником регенерации внутренних тканей органа. При этом оказалось, что регенерация идет без участия каких-либо резервных клеток. Методом облучения было показано, что источником регенерационного материала* при регенерации конечностей у аксолотлей являются местные клетки. Если облучить только середину конечности — часть бедра ж прилегающую к ней часть голени — и затем ампутировать дистальную часть конечности, ступню (по необлученной части), то происходит полная регенерация органа. Если ампутировать конечность на облученной части, то регенерации ее не происходит, рана гладко заживает. Если же ампутировать конечность проксимальнее¹ облученной части, то регенерирует конечность. Следовательно, клетки blastемы возникают не из каких-то циркулирующих в крови клеток, например лейкоцитов, а из местных клеток органа.

Применение метода меченых атомов в электронной микроскопии нанесло новый удар по теории резервных клеток. При изучении регенерации конечностей у тритонов или аксолотлей животным в определенное время после ампутации ют до нее вводили предшественники синтеза ДНК ^3H -тимидин, который включается в ядро клетки в период синтез» ДНК. Оказалось, что неповрежденные ткани конечности — мышцы, соединительная ткань — очень слабо включают изотоп, т. е. клетки их не делятся, находятся в состоянии покоя. Если же изотоп вводить в разные периоды после ампутации органа, то он включается в ядра клеток мышц, соединительной ткани и скелетной ткани, локализованных в области раны, а затем в ядра клеток blastемы. При этом в процессе регенерации происходит постепенное сильное разрушение тканей в области раны и изменение их состояния; они утрачивают свою обычную характерную структуру, специфику и начинают производить клетки, которые вначале имеют некоторые признаки старой ткани, например миофибриллы в цитоплазме, * в дальнейшем все их утрачивают и становятся клетками эмбрионального типа, дедифференцируются.

¹ Проксимальный — расположенный ближе к основанию, дистальный — противоположный проксимальному.

Такого же рода изменения, дедифференцировка, наблюдаются и при регенерации у планарий и гидр. Специальное исследование с применением методов меченых атомов и электронной микроскопии показало, что и гам при регенерации происходит дедифференцировка и что так называемые резервные клетки, необласти планарий и и-клетки гидр, являются предшественниками не регенерационных клеток, а определенным образом дифференцированных клеток. Так, и-клетки являются предшественниками стрекательных клеток (Э. Хэй, 1969). Таким образом, за последние годы стала получать все большее распространение и признание теория дедифференцировки клеток и тканей при регенерации. Согласно этой теории клетки регенерационного зачатка происходят из клеток старых тканей, которые претерпевают глубокое изменение, дедифференцировку.

Под дифференцировкой понимают появление многообразия, возникновение специфики в первоначально еще нерасчлененном материале. В настоящее время в связи с успехами молекулярной биологии дифференцировку клеток связывают с процессом синтеза специфических белков клетки или ткани, например миозина мышц или коллагена соединительной ткани.

Таким образом, при дифференцировке происходит сложный процесс развития формы органа, его тканей и клеток. Процесс дедифференцировки в какой-то мере противоположен дифференцировке. С одной стороны, при дедифференцировке происходит утрата клетками и тканями органа их специфических признаков (например, мышцами миофибрилл, хрящом основного вещества), упрощение организации, как бы возврат их к более ранней стадии. С другой стороны, они приобретают признаки, характерные для клеток и тканей эмбрионального типа. Дедифференцированные клетки приобретают способность к активному размножению. Дедифференцировка играет важнейшую роль при регенерации, о чем будет сказано ниже.

Рассмотрим отношение теории резервных клеток и теории дедифференцировки к теории камбиальности. Резервные и камбиальные клетки не одно и то же. Камбиальные — это герминативные или производящие ткань клетки, они детерминированы, а иногда, как, например, в случае эпидермиса, и дифференцированы,

специализированы именно как эпидермальные клетки. Предполагается, что резервные клетки индифферентны, недетерминированы, способны к превращению в самые разнообразные клеточные элементы. К числу резервных клеток до известной степени можно было бы, пожалуй, отнести так называемые стволовые клетки, обнаруженные при изучении кроветворения и способные к превращению в разные элементы крови. Однако здесь следует отметить, что пока еще не показано, чтобы стволовые клетки могли превращаться в какие-либо другие клетки, кроме клеток крови. Их внешний вид и морфология до сих пор точно не известны. Предполагается, что они сходны с лимфоцитами.

При дедифференцировке старых тканей остатка органа происходит изменение разных тканей. При этом выяснено, что в процессе образования бластемы участвуют клетки хряща и надхрящницы, клетки соединительной ткани, шванновские клетки, локализованные в нервных стволах, и мышечная ткань. В отношении последней есть данные, что при дедифференцировке миообласты образуются непосредственно из мышечных элементов — мышечных ядер с участком "окружающей их саркоплазмы, и есть данные, что они могут возникать из клеток-сателлитов. Точно вопрос о происхождении миобластов при разрушении и дедифференцировке мышечных волокон не выяснен. Так или иначе миобласты образуются только при условии разрушения мышечных волокон и их дедифференцировки, которая была охарактеризована выше.

Здесь же отметим понятие разрушения тканей. Разрушение не есть отмирание, некроз, а те состояние, при котором после повреждения ткань разрушается, структура ее изменяется, но клетки сохраняют жизнеспособность. При разрушении биосинтез белков ткани повышается, при распаде, ведущем к некрозу, понижается.

Утрата и восстановление регенерационной способности конечностей у позвоночных

Среди разных классов позвоночных способность к регенерации конечностей различна. У некоторых видов рыб грудные плавники могут регенерировать. Предста-

вители отряда хвостатых амфибий — тритоны, аксолотли, саламандры — обладают высокой способностью к регенерации конечностей. В классе рептилий у ящериц, а также у млекопитающих и птиц конечности не регенерируют. Большой интерес вызывают представители отряда бесхвостых амфибий: лягушки, жерлянки, жабы. У большинства видов этого отряда во взрослом состоянии конечности не способны к регенерации. Однако в личиночном состоянии у головастика, как уже отмечалось выше, до известной стадии метаморфоза конечности сохраняют высокую способность к регенерации, но вскоре ее утрачивают. Это обстоятельство делает этих животных очень удобными для постановки опытов по изучению причин утраты регенерационной способности и возможности ее экспериментального восстановления.

Первые опыты в этом направлении были поставлены швейцарским ученым Эмилем Гюено (1927). С целью выяснить причины утраты способности к регенерации он пересаживал конечности и хвосты, взятые от головастика жабы, к саламандркам и затем ампутировал часть трансплантатов. Оказалось, что способные к регенерации хвосты сохраняли эту способность после пересадки, а утратившие регенерационную способность конечности после пересадки ее не восстанавливали.

Далее советский исследователь Л. Д. Лиознер (1931) продолжил опыты Гюено. Он перекрестно пересаживал конечности от головастика травяной лягушки, способных к регенерации, к головастикам, утратившим эту способность, и наоборот: от неспособных к регенерации к способным к ней. В результате своих исследований он установил, что в целом способность или неспособность к регенерации конечностей сохраняется таковой при пересадках. Однако вместе с тем он выяснил, что на стадии утраты регенерационной способности пересадка стимулирует регенерацию конечностей, которые после трансплантации могут регенерировать.

Дальнейшие эксперименты были проведены автором (1933). Он предположил, что утрата регенерационной способности конечностей у головастика лягушки, которая происходит внезапно, скачкообразно, обусловлена тем, что на ампутационной раневой поверхности

не накапливается достаточное количество клеточного материала, необходимого для образования бластемы. С целью стимулировать клеточное размножение и вызвать образование бластемы, а отсюда и регенерацию конечностей был поставлен опыт с дополнительной травматизацией тканей остатка органа после ампута-

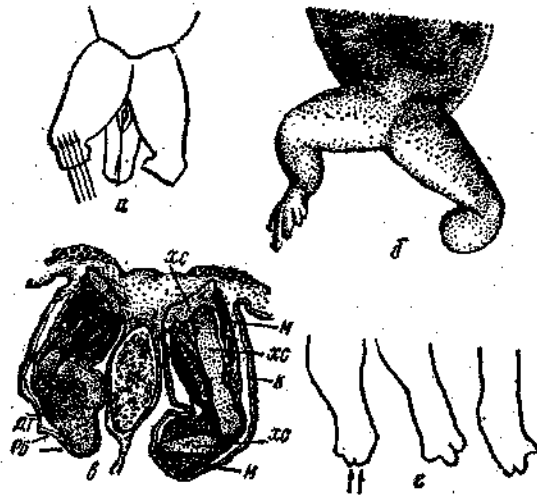


Рис. 1. Восстановление утраченной регенерационной способности конечностей у позвоночных:

а, б, в — опыты на конечностях головастика травяной лягушки (Л. В. Полежаев, 1948); г — опыты на конечностях двухдневных опоссумов (Майя и Айзек, 1970), а — схема операции; вид с брюшной стороны; справа — контроль, слева — опыт; стрелками показано, как травматизировалась культя конечности; б — результат опыта: в контроле (справа) регенерация отсутствует, в опыте (слева) — полная регенерация конечности; в — рисунок с гистологического среза через 6 дней после операции; справа — контроль: отсутствие разрушения и дедифференцировки тканей остатка органа и рубцевание раны; слева — опыт: сильное разрушение в дедифференцировка тканей остатка органа и образование регенерационной бластемы; г — индуцированная регенерация конечностей опоссума через 18, 32 в 63 дня после ампутации. К — кожа; М — мышцы; ХС — хрящевой скелет; ДТ — дедифференцированные ткани; РВ — регенерационная бластема

ции конечности на стадии, когда она утрачивает способность к регенерации.

При постановке опыта исходили из теории «раневых гормонов» немецкого ботаника Г. Габерляндта (1922),

согласно которой продукты распада тканей стимулируют размножение клеток у растений. Обе задние конечности были ампутированы в одно время на одном уровне (ниже колена). Левая была оставлена для контроля, правая — дополнительно травматизировалась продольными множественными проколами иглой в направлении от раневой поверхности в глубь остатка органа (рис. 1,а). Идея заключалась в том, что дополнительная травма может привести к образованию избытка продуктов распада тканей, стимулировать клеточное размножение и вызвать регенерацию органа.

Эксперимент увенчался успехом. Контрольные, просто ампутированные конечности не регенерировали, а подопытные, дополнительно травматизированные, регенерировали (рис. 1,б). Казалось бы, эксперимент подтвердил идею опыта. Но это было не совсем так. Было подтверждено, что дополнительная травматизация приводит к накоплению клеточного материала в области раны, однако это накопление было вызвано не стимуляцией клеточного размножения, которое несущественно различается в контроле и опыте, а сильным разрушением и дедифференцировкой тканей остатка органа (рис. 1,в). В контроле скелетные элементы и мышцы мало разрушаются, клетки удерживаются в своих тканевых связях, не освобождаются из них, не дедифференцируются, и раневая поверхность гладко заживает. В опыте упомянутые ткани чрезвычайно сильно разрушаются, дедифференцируются, клетки освобождаются из своих тканевых связей и образуют бластему, которая далее растет и дифференцируется, превращаясь в конечность.

Эти опыты были продолжены мною и другими советскими и зарубежными исследователями (Э. Е. Уманский и В. П. Кудкоцев; С. М. Роуз; М. Зингер; О. Шоттэ и Дж. Уилбер; С. Смит и др.). Основные результаты их сводятся к следующему главному положению. Установлено, что восстановить утраченную регенерационную способность конечностей можно на поздних стадиях метаморфоза и у взрослых особей различных видов бесхвостых амфибий: лягушек, жаб, жерлянок.

Восстановить утраченную способность к регенерации конечностей можно разными методами: 1) не только путем дополнительной травматизации тканей остатка ампутированного органа, но и при обработке ране-

ных поверхностей: растворами разданных химикалиев (гипертонические растворы поваренной соли, растворы глюкозы, некоторых кислот, двууглекислой соды и др.); 2) трансплантацией в культы ампутированных конечностей некоторых эмбриональных тканей или тканей взрослых животных после их консервации по методу В. П. Филатова; 3) путем вложения под эпителий ампутированной раневой поверхности продуктов гидролиза хряща; 4) при воздействии на ткани остатка органа слабым электрическим током. Кроме того, тот же результат можно получить при подведении дополнительных нервных стволов к области раневой поверхности остатка органа. Во всех случаях результат одинаков; происходит полная или частичная регенерация конечностей.

Далее были поставлены опыты на представителях разных классов позвоночных в сравнительном и онтогенетическом рядах животных, способных и не способных к регенерации конечностей. Это исследование позволило установить важнейшую закономерность. Оказалось, что у всех животных, способных к регенерации конечностей (аксолотли, тритоны, головастики ранних стадий метаморфоза), после ампутации конечностей ткани остатка органа сильно разрушаются и дедифференцируются, клетки освобождаются из своих тканевых связей и образуют под эпителием раневой поверхности бластему, которая растет, дифференцируется и превращается в регенерат конечности. У животных, не способных к регенерации (головастики поздних стадий метаморфоза, взрослые лягушки и жерлянки, ящерицы, мыши и крысы), после ампутаций конечностей ткани остатка органа в области раневой поверхности не разрушаются, не дедифференцируются, клетки удерживаются в тканевых связях и на раневой поверхности образуется не бластема, а рубец, происходит гладкое заживление культы. Если же у животных, не способных к регенерации конечностей, после ампутации последних какими-либо воздействиями вызвать сильное разрушение и дедифференцировку тканей остатка органа, то происходит полная или неполная регенерация конечностей.

Вначале удалось экспериментальным путем вызвать регенерацию обычно нерегенерирующих конечностей у ящериц, позднее это удалось, получить у новорожден-

ных млекопитающих: крысят и опоссумов. Первые опыты по восстановлению регенерационной способности конечностей у новорожденных млекопитающих (рис. 1,2) были поставлены советскими исследователями (И. Г. Роголь, 1951; Э. Е. Уманский и В. П. Кудокочев, 1952), позднее они были подтверждены в работах зарубежных исследователей (А. Шарф, 1961, 1963; М. Майзл, 1968; М. Майзл и А. Айзеке, 1970). При этом исследователи отмечают, что регенерация конечностей у новорожденных млекопитающих после соответствующей стимуляции происходит очень сходно с таковой у бесхвостых амфибий. Здесь же следует отметить весьма интересные данные американского исследователя Р. Беккера (1972). Ему удалось получить регенерацию частей конечностей у крысят в возрасте 21 дня от рождения. Для стимуляции он применял воздействие слабым электрическим током.

В настоящее время удалось получить регенерацию конечностей даже у новорожденных млекопитающих, что совсем недавно казалось если не всем, то подавляющему большинству исследователей нереальным, фантастическим. Усилия исследователей направлены на работу по двум руслам: 1) добиться получения регенерации конечностей у млекопитающих возможно более старшего возраста, что требует разработки и применения новых методов, и 2) выяснить механизм процессов, лежащих в основе утраты и восстановления регенерационной способности конечностей у позвоночных. Одной из ближайших задач в этом направлении является выяснение роли клеточного размножения и процесса дифференцировки тканей при утрате и восстановлении регенерационной способности конечностей у позвоночных. Работа в этом аспекте ведется.

Полученные данные позволили установить закономерности утраты и восстановления регенерационной способности конечностей у позвоночных. Выяснилось, что способность к репаративной регенерации конечностей в процессах эволюции и онтогенеза позвоночных по мере прогрессивной эволюции и перехода животных от водных условий существования к наземным закономерно ослабляется и утрачивается; уменьшается способность к разрушению и дедифференцировке основных тканей, составляющих эти органы. При экспериментальном резком усилении разрушения и дедифференци-

ровки можно полностью или частично восстановить ослабленную или утраченную регенерационную способность.

Знание этой закономерности очень важно, ибо позволяет перейти к выявлению причин и возможностей восстановления регенерационной способности различных органов и тканей у разных видов животных и, в частности, у человека.

Восстановление регенерационной способности, подавленной рентгеновским облучением

Одна из актуальных проблем современной биологии — защита организмов от действия ионизирующей радиации и, в частности, от ее действия, подавляющего способность к регенерации. Уже в начале XX в. было установлено, что рентгеновские лучи в большой дозе подавляют способность к репаративной регенерации у разных видов животных: планарий, дождевых червей, тритонов, аксолотлей, головастиков и др. Облучение всего тела животного вызывает лучевую болезнь и смерть.

В экспериментах для подавления регенерационной способности облучают только определенную часть тела или орган, например конечность или хвост. Структура и функция облученного органа сохраняются, облученные конечности движутся, как и необлученные, и по своему виду не отличаются от необлученных. Если часть облученного органа ампутировать, то регенерации его не происходит, рана гладко заживает. При этом оказывается, что действие облучения длительно и стойко: сохраняется в течение многих месяцев и даже лет. Значит, подавить способность к регенерации органов действием рентгеновского облучения довольно легко и просто, но восстановить ее очень трудно. Многие исследователи пришли к выводу, что восстановить ее даже невозможно. Однако это заключение преждевременно.

Большую роль в разработке проблемы сыграли уже вышеупомянутые опыты Э. Е. Уманского (1937), которые были подтверждены позднее многими советскими и зарубежными исследователями. Новизна опытов со-

стояла в предложении нового метода — сочетания облученных и необлученных тканей. До опытов Э. Е. Уманского исследователи облучали либо все тело животного, либо отдельные его органы. Э. Е. Уманский облучал органы и пересаживал на них необлученные компоненты, взятые из необлученных органов другого животного. Это позволило ему исследовать роль отдельных компонентов органа в процессе регенерации, источники происхождения клеточного материала при регенерации и выяснить обратимо или необратимо изменяются ткани после облучения.

У аксолотлей в большой дозе (7000 р) облучали конечности, подавляя их способность к регенерации. Затем из облученной конечности удаляли манжетку кожи и заменяли ее такого же размера манжеткой кожи, взятой из необлученных конечности или хвоста другого аксолотля. Здесь следует заметить, что у хвостатых амфибий при пересадках тканей или органов от одного животного к другому в пределах одного вида не проявляется несовместимости тканей, как это наблюдается у млекопитающих и птиц. Трансплантаты хорошо приживаются и не отторгаются. Через 15—20 дней после пересадки конечности ампутировали по трансплантату. В результате произошла регенерация, соответствующая происхождению трансплантата: если на облученную конечность была пересажена необлученная кожа конечности, то регенерировала конечность; если на облученную конечность пересаживали необлученную кожу хвоста, то регенерировал хвостообразный орган.

Сходные результаты были получены, когда в облученные конечности пересаживали необлученные мышцы или скелетные элементы. После приживления трансплантатов и ампутации конечностей происходила регенерация, соответствующая происхождению трансплантатов: если были пересажены мышцы конечности, то регенерировали конечности; если были пересажены мышцы хвоста, то регенерировали хвостообразные органы и т. п. Автор сделал из своих опытов вывод: облучение необратимо подавляет способность к регенерации органов и при сочетании облученных и необлученных тканей источником происхождения регенерационного материала всегда являются только необлученные ткани; дифференцированные ткани обладают специфическими потенциями к формообразованию. К сходным

выводам пришли также и другие советские и **зарубежные** исследователи, повторившие **опыты** Э. Е. Уманского. Однако некоторые исследователи поставили под сомнение известные выводы Уманского, прежде всего вывод об источниках регенерационного материала.

Е. Ч. Пухальская (1940) пересаживала на **необлученные** конечности аксолотлей белой **расы** кожу **облученных** аксолотлей черной расы и после этого **ампутировала** конечности по трансплантату. Происходила регенерация **белой конечности, в которой** участвовала пигментированная кожа трансплантата. Следовательно, после облучения кожа в какой-то мере **сохраняет** способность к регенерации. Однако при этом не исключается возможность пассивного вовлечения в процесс регенерации пигментных клеток облученной кожи.

Л. Д. Лиознер (1946) **пересаживал** в облученные конечности аксолотлей **необлученные** ткани, ампутировал органы по трансплантату и наблюдал, как и **Уманский**, регенерацию конечностей, но установил, что в регенерат входили элементы старых **облученных** тканей. Поэтому он, как и Е. Ч. Пухальская, заключил, что **облученные** ткани **могут** принимать участие в регенерации органа под влиянием **необлученных** тканей.

Сходные опыты поставила В. Ф. Сидорова (1949) и пришла к тем же **выводам**, что и Л. Д. Лиознер. В другой работе В. Ф. Сидорова (1951) **облучала** конечности аксолотля в дозе 3500 р и после этого пересаживала в них куски печени, сердца **или** легких, взятые от **необлученных** аксолотлей. В некоторых **случаях** была регенерация типичных или атипичных конечностей. В. Ф. Сидорова заключила, что в этом случае происходит **восстановление** регенерационной способности, подавленной облучением. К сожалению, в ее опытах доза облучения была слишком мала **и** могла не **подавить** полностью регенерацию.

Голландский исследователь Г. А. Трамбуш (1959) облучал **конечности** у белых аксолотлей и **пересаживал** на них **необлученную** кожу черных аксолотлей. В большинстве случаев регенерировали серые конечности, что могло **зависеть** от участия в регенерации тканей донора и реципиента, и в трех случаях регенерировали белые конечности. Автор считает, что в его опытах имело место восстановление регенерационной способности **облученных конечностей**.

Однако его выводы **оспаривает** С. М. Роуз (1964), который предполагает, что регенерация конечностей зависела от участия в ней **необлученного** эпидермиса проксимальных частей конечности, клетки которого могли мигрировать к раневой поверхности и дать начало регенерации. В более ранней работе Роуз и соавторы (1955) облучали конечности у тритонов и удаляли облученную кожу. Оголенная конечность покрывалась эпидермисом, мигрировавшим от проксимальных **участков** **необлученной** части органа и закрывавшим раневую поверхность, на которой возникала бластема, и происходила регенерация. Авторы предполагают, что эпидермис является источником образования бластемы. Однако нам кажется более вероятным, что под влиянием **необлученного** эпидермиса происходит восстановление регенерационной способности облученных тканей конечности.

Французская исследовательница Л. Лазар (1959—1965) облучала конечности у аксолотлей, **подавляя** их способность к регенерации, и пересаживала в **облученные** органы **необлученную** кожу живота, ткань семенников или эмбриональные ткани. Она наблюдала регенерацию конечностей. Однако из своих опытов она делает вывод, что источником регенерации были ткани трансплантатов, которые под влиянием «поля» остатка органа превращались в регенераты конечностей. Мы полагаем, что в ее опытах трансплантаты, видимо, **восстанавливали** подавленную облучением **регенерационную** способность конечностей.

В опытах нашей лаборатории у аксолотлей **подавляли** способность к регенерации конечностей **облучением** в высокой дозе — от 7000 до 10 000 р. После облучения и последующей ампутации конечности не регенерировали, раны гладко заживали (рис. 2, а, б). В опыте в культе облученных **конечностей** шприцем **инъекцировали** **гомогенаты**¹ мышц конечностей аксолотлей. В результате имела место регенерация облученных конечностей. **Одновременно** такой же опыт был поставлен польскими исследователями С. Скворном и Г. Рогусским (1958) и был получен такой же результат. Эти исследователи сделали вывод, что источником **регенерации**

¹ **Гомогенат** — это сильно измельченная и растертая в гомогенизаторе **ткань**, состоящая из отдельных **диссоциированных** клеток.

рации являются диссоциированные клетки гомогената. Однако это заключение не может быть принято в другом нашем опыте.

В облученные конечности аксолотлей мы инъекцировали гомогенаты мышц бедра крысы. В этом случае



Рис. 2. Восстановление регенерационной способности конечностей у аксолотлей, подавленной рентгеновским облучением. Конечности облучались в дозе 7000 р:

а — контроль: отсутствие регенерации облученных конечностей; б — опыт: регенерация одной из облученных конечностей после инъекции гомогената мышц крысы; в — опыт: регенерация облученной черной конечности, пересаженной белому аксолотлю, после инъекции гомогената мышц крысы

процент регенерации конечностей аксолотлей был даже выше, чем в опыте с гомогенатом аксолотля, причем клетки гомогената крысы не могли быть источником регенерации конечности аксолотля. Мы предполагаем, что происходило восстановление подавленной облучением способности к регенерации конечностей аксолотлей. Конечности регенерировали в 35% случаев, всегда регенерировала только одна из двух облученных конечностей, причем или та, в которую была сделана инъекция, или та, в которую инъекция не делалась, парная (рис. 2, б, в). Регенерат содержал все ткани конечности: скелетные элементы, мышцы, соединительную ткань, эпидермис, пигментные клетки, нервы и кровеносные сосуды и имел нормальное строение.

Дальнейшие опыты показали, что можно получить регенерацию облученных конечностей, если использовать гомогенаты, приготовленные не только из мышц, но и из печени или семенников крысы. Гомогенаты кожи оказались неактивны.

Затем исследовали вопрос, в каком состоянии сохраняют активность суспензии, приготовленные из тка-

ней. Оказалось, что лиофилизация¹ мышц и селезенки снижает активность гомогенатов. Гомогенаты лиофилизированной печени оказывают сильный токсический эффект и приводят к гибели животных. Кипячение мышц сильно снижает, а замораживание при -18° уничтожает активность гомогенатов. Ядра, выделенные из клеток печени, или выделенная из них ДНК не восстанавливают регенерационную способность облученных конечностей, в то время как рибосомальная РНК, выделенная из клеток печени, весьма активна. Также активен и белок, выделенный из клеток печени или молока (кислый белок).

К регенерации облученных конечностей могут привести повторная травматизация культей облученных и ампутированных конечностей или пересадка на них измельченных облученных тканей конечностей аксолотлей.

Очень интересные результаты получились в опытах с повторной ампутацией облученных конечностей. Известно, что если облучить конечности и ампутировать их, то они не регенерируют. Если же дистальные части культей этих нерегенерировавших конечностей через несколько месяцев после ампутации повторно ампутировать, на 3—5 мм отступая от бывшей раневой поверхности, то они могут регенерировать в 10—12% случаев. Если же повторно ампутировать облученные и нерегенерировавшие конечности в опытах с введением неактивных гомогенатов, например, при инъекции гомогенатов замороженных мышц крысы, то конечности регенерируют в 70 и даже 100% случаев. Стало ясно, что введение гомогенатов или других препаратов с течением времени, через 2—3 месяца, приводит к значительному усилению регенерационной способности. Это явление было названо нами «нарастающим эффектом».

Микроскопическое исследование показало, что после облучения и ампутации ткани остатка органа сохраняют свою способность к разрушению, но утрачивают способность к дедифференцировке. В области ампутационной раневой поверхности под эпителием не возникают дедифференцированные клетки бластымы. Образуется небольшое количество клеток, ядра которых

¹ Лиофилизация — высушивание под вакуумом при глубоком (-78°) замораживании.

содержат крупные **глыбки хроматина** а -окружены **большим ободком** **ацидофильной цитоплазмы**. **Возникают** так называемые «**грубые клетки**». **Способность** к размножению этих клеток резко **снижается**. При **экспериментальном восстановлении** регенерационной способности, подавленной облучением, «**грубые клетки**» **исчезают** и **возникают** клетки бласты, **способность к дедифференцировке** тканей **восстанавливается**. **Способность к** размножению облученных клеток также **восстанавливается**.

Биохимическое исследование показывает, что **облучение** вызывает нарушение и снижение концентрации **ДНК** и **РНК** в облученных тканях конечностей аксолотлей и **снижение** концентрации **белка**. **Значит,** **местное облучение** резко нарушает нуклеиновый и **белковый обмен** в тканях. При **экспериментальном** **восстановлении** регенерационной способности, подавленной облучением, концентрация нуклеиновых кислот **повышается** и **белковый обмен** нормализуется. Этот процесс происходит с некоторой задержкой **по сравнению** с **таким** при нормальной регенерации конечностей у аксолотлей.

Принципиальное значение имеет вопрос об **источниках** регенерации в опытах с **восстановлением** регенерационной способности, подавленной облучением. Здесь возможны два случая: 1) **регенерация** идет за счет клеток необлученных тканей, **мигрировавших** в область ампутационной раневой поверхности из глубины тканей или **пришедших** с током **крови**, 2) **регенерация** идет за счет клеток самих облученных **тканей**, т. е. имеет место истинное **восстановление** регенерационной способности облученных **тканей**.

На этот **вопрос** ответили эксперименты. Аксолотлям белой расы **пересаживали** конечности, **полученные** от аксолотлей черной расы. Как известно, пигментация у аксолотлей представляет собой стойкий **наследственно обусловленный признак** и поэтому может **быть** использована в подобных опытах. Затем **конечности** **облучали**, подавляя их способность к **регенерации**, и **восстанавливали** ее путем инъекции животным препарата РНК. **Оказалось**, что у белых аксолотлей **регенерируют** черные, густо пигментированные конечности, а не

¹ Имеющая сродство к кислым краскам,

белые или серые, которые могли бы возникнуть из **необлученных мигрировавших** клеток **белого аксолотля** при **участии** пигментных клеток трансплантата (рис. 2, в). **Все же** в отношении этого опыта были **сделаны** возражения, что в регенерации могут **участвовать** пигментные клетки трансплантата и **симулировать**, **таким образом**, **восстановление** регенерационной способности конечностей. В этой связи следует привести **результаты** опытов с облучением и применением метода **меченых атомов**.

У аксолотлей **ампутировали** ступни **конечностей**. Когда возникали регенерационные зачатки на стадии **конуса**, в котором было много митотически делящихся клеток, животным вводили **H^3 -тимидин**. Он **поглощался** **ДНК-синтезирующими** клетками бласты. На **следующий** день эти конечности облучали в **большой дозе** (7000 p) и **подавляли** их **регенерационную** способность. После этого на облученные конечности **пересаживали** кожные манжетки, мышцы или скелет, взятые от **необлученных** животных. Такие **конечности** **регенерировали**, и их регенерационные зачатки **содержали** много **меченых H^3 -тимидином** клеток. Это свидетельствовало о том, что в регенерации **участвуют** облученные клетки, т. е. что происходит **восстановление** регенерационной способности, подавленной облучением (С. Я. Тучкова, 1973; Деша, 1974). Эти данные подтверждаются **другими** опытами С. Я. Тучковой. У аксолотлей также **получали** после ампутации конечностей регенерационные **конусы**, затем животным **вводили H^3 -тимидин**, потом **конечности** **облучали**, подавляя их способность к регенерации, и после этого **им** вводили **гомогенат** мышцы крысы. **Регенерационная** способность конечностей **восстанавливалась**, а в **бластемах** **содержалось** много **меченых** клеток, возникших из облученных тканей.

В заключение отметим еще один **существенный** факт. Если конечности у аксолотлей облучить и затем **ампутировать**, то раны **гладко заживают**, но через 1—2 месяца на них образуются длительно **незаживающие** рентгеновские язвы. Подобные язвы у **людей** могут **переродиться** в злокачественные опухоли. Если же после облучения и ампутации животным ввести **гомогенаты** или РНК, или белок, то **происходит** регенерация **конечностей**, причем на **регенерировавших** конечностях язвы **никогда** не образуются. **Следовательно**, если **бы** уда-

Можно получить восстановление регенерационной способности, подавленной рентгеновским облучением, у млекопитающих и человека, то открылся бы путь лечения рентгеновских язв и предотвращения образования из них злокачественных опухолей. Попытку лечить рентгеновские язвы у людей сделал болгарский исследователь Р. Цанев (1957), получив некоторый положительный результат.

Восстановление регенерационной способности костей свода черепа

Трубчатые кости при переломах хорошо регенерируют за счет **костеобразовательных** свойств **надкостницы**. Плоские кости свода черепа у людей, в **противоположность** трубчатым костям, не способны к регенерации и после повреждения или **оперативного** вмешательства не регенерируют. Между тем плоские кости черепа сверху покрыты надкостницей, а снизу подостланы твердой мозговой оболочкой, играющей роль второй надкостницы. Тем не менее, несмотря на **наличие** двух надкостниц, кости свода черепа не способны к регенерации и в области дефекта образуется только рубец. Эта способность костей свода черепа представляет как **теоретический интерес** — выяснение причин их неспособности к **регенерации**, так и практический — разработка методов восстановления удаленных участков черепных костей.

Хирургам часто приходится иметь дело с **повреждениями** костей свода черепа в **связи** с бытовыми травмами, операциями по поводу удаления опухолей мозга или мозговых оболочек; в связи с травмами военного порядка и др. При удалении участков костей свода черепа образуется дефект, поскольку кость не **восстанавливается**, и этот дефект приходится как-то **замещать**, чтобы защитить мозг от случайных повреждений головы, которые могут иметь серьезные последствия. Хирурги для этого применяют разные методы. Пересаживают в область дефекта пластинки кости, взятые от того же человека или от других людей, в основном от **трупов** или от животных. Однако пересадка кости, как **правило**, не достигает цели, **потому** что очень часто **транс-**

плантированная кость рассасывается и дефект **открывается** вновь.

Твердая развитая кость плохо снабжается **сосудами**, плохо питается. Кроме того, при пересадке кости от **одного** человека к другому или от животных к **человеку** проявляется биологическая несовместимость **тканей**, и трансплантат в конечном счете рассасывается. Пересадки же кости от того же **самого** больного связаны с необходимостью второй операции, что само по себе нежелательно и, кроме того, часто все равно себя не оправдывает. Поэтому хирурги перешли к замещению дефектов черепа методом аллопластики, т. е. **замещения** дефектов неживыми материалами — пластинками, приготовленными из органического стекла, тантала, рюга и других материалов. Вживление таких пластинок позволяет быстро и надежно закрыть область дефекта и защитить мозг от случайных повреждений, но в то же время этот метод небезразличен. **Вживленная** неживая пластинка безразлична для **соседних** с ней живых **тканей**. Поэтому проблема замещения дефектов черепа сохранила свою **актуальность**.

Возник вопрос, нельзя ли разработать **биологические** методы восстановления обычно **нерегенерирующих** костей свода черепа у некоторых видов млекопитающих и человека. Работая в этом направлении в течение ряда лет, удалось предложить и разработать 4 новых биологических **метода** замещения дефектов черепа. Мы рассмотрим только один, пожалуй, наиболее простой и эффективный — метод деструкции. Суть этого метода состоит в следующем: с целью вызвать регенерацию костей свода черепа кость сильно разрушают до состояния опилок, которые помещают в области дефекта **черепа**, что приводит к регенерации костей. Предпосылками для предложенного метода деструкции явились **следующие обстоятельства**:

1) для восстановления утраченной **регенерационной** способности конечностей у бесхвостых амфибий и некоторых других позвоночных необходимо сильно разрушить ткань органа;

2) при удалении участка кости свода черепа у **мышей**, крыс или собак кость не регенерирует, но над краем кости в области дефекта наблюдаются признаки **костеобразования**, что можно связать с наличием про-

дуктов распада кости и их действием на соседнюю молодую соединительную ткань:

3) как показали наши прежние опыты, у аксолотлей можно полностью разрушить ткани остатка органа (скелет, мышцы, соединительную ткань) после ампутации конечности и, несмотря на это, получить полную

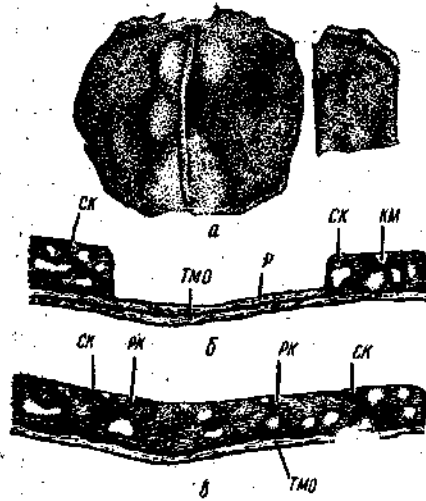


Рис. 3. Восстановление утраченной регенерационной способности костей свода черепа у млекопитающих: а — свод черепа одномесячного котенка с полной регенерацией удаленного куска кости (показан справа от свода черепа); б — поперечный срез кости черепа вместе с твердой мозговой оболочкой у взрослой собаки; контроль: отсутствие регенерации кости через год после операции; в — опыт: полная регенерация кости через год после пересадки в область дефекта костных опилок; СК — старая кость; КМ — костный мозг в полостях; Р — рубец; ТМО — твердая мозговая оболочка; РК — регенерировавшая кость

регенерацию конечности. Источником регенерации в этом случае являются клетки разрушенных тканей.

Исходя из этих предпосылок, были поставлены специальные опыты. Прежде всего установили, что среди млекопитающих многие виды животных (мыши, крысы, собаки, овцы, козы и др.) не обладают способностью к регенерации костей свода черепа во взрослом состоянии. Некоторые виды — кролики, морские свинки — обладают. Далее было установлено, что способность к регенерации костей свода черепа утрачивается с возрастом животных. Так, у котят и щенков до месячного возраста удаленные куски кости свода черепа полностью восстанавливаются (рис. 3,а), а в возрасте трех месяцев и позднее — не восстанавливаются. Таким образом, кости свода черепа подчиняются той же закономерности утраты регенерационной способности в индивидуальном развитии, что и конечности у бесхвостых амфибий и млекопитающих,

Если у взрослых собак удалить кусок теменной кости площадью до 10—12 см², сохранив надкостницу и твердую мозговую оболочку, а окружающие ткани и кожу зашить, то можно установить, что в области дефекта разыгрываются процессы воспаления, но регенерации кости не происходит, возникает только грубый рубец (рис. 3,б).

Совсем другое получается в опыте с деструкцией. Если у взрослых собак после такого же удаления куска кости, что и в контроле, поместить в область дефекта свежие полученные костные опилки от той же собаки и затем рану зашить, то в результате наблюдается полная регенерация кости (рис. 3,в). Процесс восстановления кости протекает следующим образом. В области дефекта разыгрываются процессы воспаления. Клетки в трансплантированных костных опилках погибают уже через 1—2 дня после операции. Костное вещество опилок растворяется под влиянием ферментов, находящихся в области раны. Уже через 7 дней после операции костные опилки полностью растворяются. Одновременно с этим в области дефекта скопляется масса клеток молодой незрелой соединительной ткани, в которой уже через 7 дней после операции появляются признаки костеобразования, вначале у краев старой кости и у твердой мозговой оболочки. Через 15 дней после операции вся область дефекта заполнена молодой губчатой костью, при этом видна резкая грань между краями старой и новообразованной кости, иногда между ними видна даже узкая щель. Новая кость возникает не от краев старой, а по всей области дефекта независимо от старой кости. Через 30, 60 и 90 дней после операции происходит дальнейшее развитие кости. Она уплотняется, становится компактной, в ней возникает костный мозг. Чем дальше идет процесс, тем лучше развивается кость. Она сливается с краями старой кости и становится неотличимой от нее.

Новообразованная кость возникает не из клеток пересаженных костных опилок, клетки эти, как уже было отмечено, гибнут, а из клеток молодой незрелой соединительной ткани, находящейся в области дефекта, под влиянием веществ, выделяющихся из растворяющихся костных опилок. Без наличия опилок эти клетки превращаются не в кость, а в рубец.

-Костные опилки можно получать из костей разного

происхождения: из черепной, трубчатой, реберной кости и др. Результат от этого не изменяется. Новообразование кости происходит, если применить костные опилки, которые могут быть получены от того же самого животного или от других животных того же вида, или даже от животных другого вида, например, от коровы при их пересадке к собаке. В этом случае изменяется только скорость протекания процесса. Она выше всего при аутотрансплантации, несколько ниже при гомотрансплантации, т. е. при пересадке от других животных того же вида, и ниже всего при использовании костных опилок, полученных от животных другого вида. Снижается только скорость процесса, но качество и результат его не изменяются. Биологическая несовместимость при этом никакой роли не играет, так как костные опилки не приживляются, а являются только источником образования индуцирующих веществ.

Процесс регенерации идет путем индукции, подобно эмбриональной индукции, открытой 50 лет назад Г. Шпеманом (1924). В процессе индукции присутствуют: индуктор, реагирующий или компетентный материал и известные условия, при которых совершается процесс. Индуктор действует, в основном, химическим путем, выделяя индуцирующие вещества. Природа этих веществ в процессе эмбриональной индукции, несмотря на обилие исследований, до сих пор точно не выяснена. Наиболее вероятным считают, что это вещества белкового происхождения или рибонуклеопротеины. Аналогичная картина наблюдается и в отношении индукции кости. Предполагают, что костеобразующие вещества являются белками типа коллагена, РНК, рибонуклеопротеины или полисахариды. Для установления их химической природы требуются дальнейшие исследования.

При регенерации костей черепа большую роль играет твердая мозговая оболочка, которая необходима для этого процесса, но она одна, без наличия костных опилок, не может обеспечить процесс регенерации кости. Надкостница, хотя и ускоряет течение процесса, но не необходима. Кость можно индуцировать сквозь миллиметровый фильтр, стенки которого не пропускают клетки, но проницаемы для веществ (диаметр пор 0,45 мкм).

В опытах на собаках регенерацию путем индукции кости свода черепа удается получать в 100% случаев.

Эти данные были подтверждены в пяти институтах разных городов Советского Союза и, кроме того, были проверены в условиях клиники человека, причем с положительным результатом. Поэтому достоверность результатов не вызывает сомнений и выявляется прямая связь экспериментально-теоретических исследований с практикой медицины.

Регенерация мышцы сердца

Мы видели, что можно восстанавливать утраченную регенерационную способность конечностей *же* костей свода черепа. Эти органы, конечно, играют определенную и существенную роль в жизни организма, но все же не являются жизненно важными. В связи с этим невольно возникает вопрос, нельзя ли, исходя из знания закономерностей и принципов регенерации, поискать пути восстановления таких жизненно важных органов, как сердце, которые не обладают способностью к регенерации. Известно, что первой и основной причиной смертности населения промышленно развитых стран являются сердечно-сосудистые заболевания, они составляют более 50% от общей смертности населения США.

Среди сердечно-сосудистых заболеваний наиболее часто наблюдаются такие болезни мышцы сердца, как инфаркты миокарда, миокардиты различного происхождения и др. Когда мышца сердца сильно повреждена или изношена, возникает серьезная угроза для жизни. Встает задача радикального решения проблемы поражений мышцы сердца. В настоящее время намечено три пути решения этой проблемы: 1) пересадка сердца, 2) пересадка искусственного сердца и 3) регенерация мышцы сердца.

Хирургия достигла такого уровня развития, что стало возможно пересаживать сердце от одного организма к другому не только в опытах на лягушках, собаках, кошках и других животных, но и у человека. Однако проблема все же не решена, так как на пути трансплантации сердца стоит ряд трудностей, из которых наибольшую роль играет необходимость преодоления биологической несовместимости тканей при гомотрансплантации.

В последние годы американские исследователи сконструировали искусственное сердце, работающее за счет источника ядерной энергии. Предлагается заменять собственное поврежденное сердце искусственным. Однако и в этом плане есть свои уязвимые места: ядерный источник работает не столь продолжительное время, какое требовалось бы для человека; искусственное сердце все же полностью не может заменить настоящего сердца, кроме того, оно в настоящее время очень дорого. Было бы весьма важно разработать методы, позволяющие получить регенерацию мышцы сердца. Забегая вперед, следует сказать, что эта проблема также еще не разрешена, но намечены конкретные пути ее решения и получены известные положительные результаты.

Патологоанатомы и экспериментаторы давно пришли к выводу, что после различного рода повреждений мышцы сердца, как, например, при ранениях, инфарктах миокарда, миокардитах инфекционного происхождения (вследствие дифтерии, ревматизма, скарлатины, гриппа и других заболеваний), ожогах и т. п. мышечная ткань сердца не регенерирует, и в очагах повреждения возникают только рубцы. Рубцы позволяют сердцу работать, сохраняют жизнь человеку, но сами не способны к сокращению и поэтому не заменяют специфическую утраченную ткань мышцы сердца. Экспериментаторы в течение нескольких десятилетий культивировали в питательной среде вне организма кусочки мышцы сердца эмбрионов курицы и млекопитающих. Эти кусочки интенсивно росли, но не дифференцировались. Мышечные волокна исчезали, а новые не возникали, вторичной дифференцировки их не происходило. Отсюда среди цитологов возникло мнение, что при культивировании мышечная ткань сердца полностью погибает и растут только фибробласты, т. е. клетки соединительной ткани.

Такое положение сохранялось в науке довольно долго. Были отдельные попытки получить регенерацию мышцы сердца при повреждении миокарда у взрослых крыс и введении в организм в качестве стимуляторов регенерации белковых экстрактов, полученных из мышцы сердца эмбрионов крысы, но они окончились безуспешно (Тэрэ, 1939). В связи с этим многие биологи и медики пришли к выводу, что регенерацию мышцы сердца у млекопитающих и человека получить невозможно.

Однако этот вывод был недостаточно обоснован: отсутствие регенерации мышцы сердца в норме и при некоторых условиях эксперимента еще не означает того, что при других условиях регенерацию получить невозможно. И действительно, в литературе уже довольно давно стали накапливаться данные, показывающие, что при некоторых условиях можно наблюдать признаки регенерации поврежденного миокарда. Так, было описано образование миобластов и расщепление старых мышечных волокон сердца при дифтерийном миокардите у детей (А. Геллер, 1914; А. Уортин, 1924 и др.). Позднее экспериментаторы описали регенерацию мышечных волокон сердца у новорожденных котят, крысят и морских свинок (П. П. Румянцев, 1953; М. Робледо, 1956 и др.). В последние десятилетия были получены новые данные.

В эксперименте наблюдалась регенерация мышечных волокон в очагах повреждения мышцы сердца у лягушек и ящериц, хотя полного заполнения очагов при этом не происходило. Удалось получить рост и вторичную дифференцировку мышцы сердца вне организма не только у эмбрионов курицы или мыши, но даже и у взрослых петухов и кроликов (Л. М. Григорьев, 1960, 1974). Для этого был применен простой и весьма эффективный прием: кусочки мышцы сердца культивировали в чистом эмбриональном экстракте, который является сильным стимулятором роста.

Новый этап исследования наступил, когда были предложены методы стимуляции регенерации миокарда физиологическими и хирургическими путями. При физиологическом подходе учитывали то, что для получения регенерации необходимо усилить разрушение и де-дифференцировку тканей в очаге повреждения. Путем ферментативного гидролиза приготавливали продукты распада мышцы сердца и затем для стимуляции применяли малые дозы гидролизата, ибо большие дозы тормозят процессы восстановления. Опыты ставили на крысах и кроликах. Животных оперировали по всем правилам хирургии, асептики и антисептики. Сердце повреждали путем электродиатермокоагуляции, в результате чего на передней стенке левого желудочка сердца возникал конический очаг повреждений, вершина которого уходила в глубь тканей, к эндокарду. Коагулированная мертвая ткань в виде пробки оставалась среди живой

ткани, напоминая инфаркт, который также представляет собой мертвую, некротизированную ткань, возникающую среди живой ткани сердца, но другим путем, обычно в результате закупорки сосуда тромбом или вследствие спазма венечных сосудов сердца, через которые происходит кровоснабжение и питание самого сердца.

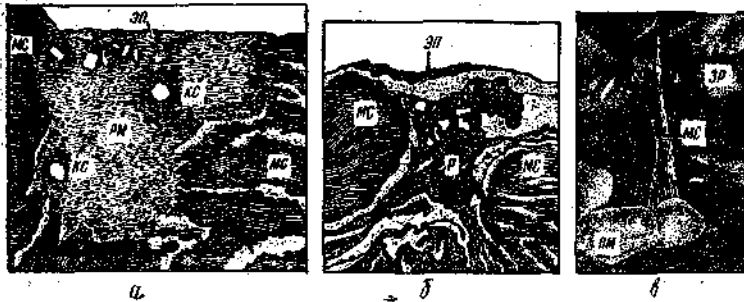


Рис. 4. Регенерация мышцы сердца у взрослых млекопитающих:

а, б — поперечный срез через область дефекта стенки сердца у крысы; а — контроль: отсутствие регенерации через 120 дней после повреждения; б — опыт, стимуляция регенерации, 13 дней после операции; МС — мышца сердца; Р — рубец; ЭП — эпикард; РМ — регенерировавшая мышца; КС — кровеносный сосуд; в — регенерация мышечного стебля (МС) от папиллярной мышцы (ПМ) у взрослой собаки через 70 дней после иссечения правого желудочка и наложения на область резекции заплатки из капрона с измельченной мышцей сердца; вид со стороны эндокарда, изнутри сердца (Н. П. Синицын, 1970), ЗР — зона резекции

В контроле, без применения стимуляторов, и в опыте, с применением стимуляции, ряд явлений был одинаковым. В очаге повреждения возникало асептическое воспаление, растворение или лизис коагулированных тканей, замещение их грануляциями, т. е. молодой соединительной тканью с кровеносными сосудами, которая позднее превращалась в плотную рубцовую ткань. Помимо этого, наблюдалось еще одно общее явление, но в разной степени. Через 7 дней после операции в центре очага повреждения среди рассасывающейся некротизированной ткани возникали миобласты и цепочки миобластов, а через 13 дней эти клетки превращались в молодые недифференцированные мышечные волокна.

Весьма существенно различие между опытом и контролем. В контроле культы мышц, окружающих некро-

тизированные ткани очага повреждения, сохраняли свою структуру, не разрушались и не дедифференцировались, лизис коагулированных тканей происходил медленно — в течение 13 дней. В опыте в культях мышц резко изменялась структура, они сильно разрушались и дедифференцировались. В них исчезала поперечная и продольная исчерченность, ядра становились округлыми, пузырьковидными, светлыми, с крупным ядрышком. Лизис коагулированных тканей происходил в 2 раза с лишним быстрее, чем в контроле. В контроле новообразованные мышечные волокна возникали в виде небольших островков, расположенных в центре очага повреждения, через 45 дней после операции они полностью распадались и замещались рубцовой тканью (рис. 4, б). В опыте новообразованные мышцы имели больший объем, заполняли почти весь очаг повреждения (рис. 4, а) и распадались позднее — через 60 дней после операции. Интересно, что при новообразовании мышц в миокарде происходила нормализация электрокардиограммы (ЭКГ), а при распаде новообразованных мышц ЭКГ вновь возвращалась в рубцовую фазу.

Далее была сделана попытка стимулировать регенерацию мышцы сердца разными препаратами, их было испытано несколько десятков. Оказалось, что одни препараты неактивны, другие активны, причем в разной степени. Действовали они также по-разному. Одни стимулировали новообразование мышц в центре очага повреждения независимо от культей мышц, другие стимулировали регенерацию от культей мышц по краям очага повреждения. Во всех случаях распад новообразованных мышц был связан с образованием плотного рубца по краям очага повреждения и его давления на регенерат. Возникла задача разрыхлить рубцовую ткань, чтобы уменьшить ее давление на регенерат. Для этой цели были применены тормозители или ингибиторы рубцевания: пирогенал, препарат селезенки и некоторые другие. Оказалось, что при этих условиях рубец разрыхляется, и новообразованные мышечные волокна не так сильно сдавливаются им и дольше сохраняются, чем в контроле, но стимуляции регенерации мышцы сердца не происходит. Тогда была предпринята попытка воздействовать на поврежденный миокард стимуляторами регенерации мышцы сердца и одновременно ин-

гибиторами рубцевания. В этом случае удалось увеличить объем новообразованной ткани и **дольше** ее **сохранить**. Однако в конечном счете **получить** полное заполнение очага повреждения новообразованными мышечными волокнами и длительно их **сохранить не удалось**. Получалось или увеличение объема новообразования мышц, но не постоянное, или постоянное, с **длительностью** до года, **новообразование** мышечных волокон, но в небольшом объеме, в виде «мостов» мышечных волокон, соединяющих края очага повреждения.

Опыты со стимуляцией регенерации мышцы сердца привели к тому, что **подобные** исследования стали проводиться в ряде лабораторий Советского **Союза**, были испытаны многие препараты, причем с разным успехом. Наиболее важные результаты были получены в **Ташкенте** М. Х. Клиблеем (1974, 1975). Этот исследователь применял для стимуляции регенерации мышцы сердца у крыс **некоторые** комплексные соединения кобальта, которые в 100 раз больше содержали металлического кобальта как активного начала препарата, чем витамин **B₁₂**, обладающий слабым стимулирующим **действием** на регенерацию. В контроле в электродиатермокоагуляционном очаге повреждения возникал только **рубец**, в опыте — пласты хорошо дифференцированных **мышц**, которые длительно и стойко сохранялись. Мышцы возникали всегда возле сосудов, которые хорошо развивались в опыте, а затем постепенно всегда исчезали в контроле, вследствие чего рубцовая ткань была очень плохо снабжена кровью.

Другое важное направление исследований — это работы с применением хирургических методов стимуляции регенерации мышцы сердца. Н. П. Синицын (1959—1971) разработал методику резекции или иссечения участков мышцы сердца у собак, выявив зоны неприкосновенности, в которых проходят магистральные нервные стволы и кровеносные сосуды. Оказалось, что можно иссекать большие участки стенок желудочков или предсердий со вскрытием их полостей и сохранять жизнеспособность **животных**. Если края мышцы сердца плотно сшивали, то возникал лишь рубец. Если же **края** не стягивали, а на раны накладывали заплаты из фасции, **сукна**, замши, капрона или других материалов, то под заplatой со стороны эндокарда в области дефекта среди рубцовой ткани возникали пласты **хорошо диф-**

ференцированных поперечно-полосатых мышц, которые сохранялись в течение всего опыта, т. е. более года. При этом происходила нормализация ЭКГ. **Области** дефекта **могли** достигать 12—14 см². Регенерировали не только **трабекулярные** мышцы стенки сердца, но и папиллярные или сосочковые мышцы, к которым прикрепляются сухожилия клапанов (рис. 4, в).

Объем **регенерировавших** мышц был невелик, но его удалось значительно увеличить, стимулируя **регенерацию**. Для стимуляции были использованы **дибазол**, **витамин B₁₂**, **измельченная** ткань миокарда, полученная при удалении участка мышцы сердца во время операции, которая вкладывалась в капроновый мешочек-заплату, и даже **электрический** трк, который подводили в спираль, вживленную вместе с заplatой в область резекции мышцы сердца. При этом от папиллярной мышцы в зону резекции **вросло** от одного до четырех толстых мышечных **стеблей**, **чего** никогда не наблюдалось в контроле.

Следует отметить, что вокруг описанных результатов опыта возникла дискуссия. **Некоторые** исследователи, которые сами не ставили **опытов** по физиологической или хирургической стимуляции регенерации **мышцы** сердца, высказали **сомнения** по поводу **этих** данных, основываясь на теоретических положениях. У взрослых млекопитающих и человека ядра в мышечных волокнах сердца перестают синтезировать ДНК и делиться. Поэтому трудно представить себе, как происходит регенерация мышечных волокон сердца. Однако здесь **необходимо** заметить, что описанные выше результаты опытов были подтверждены другими исследователями, например М. Х. Клиблеем.

С другой стороны, регенерация начинается не с деления клеток по **краям** очага повреждения, а с их освобождения **из** тканевых связей в процессе разрушения и **дифференцировки** и миграции. При этом клетки мышечного **или** **миогенного** происхождения при изучении **под световым** микроскопом не отличаются от клеток соединительной ткани. Однако при изучении **под электронным микроскопом** они отличаются по наличию в их цитоплазме миофиламентов и **миофибрилл** с характерной **поперечной** исчерченностью. Такие **миогенные** клетки были обнаружены не только в зоне **инфаркта** миокарда собак, но и в опытах с культурами тканей. **Оказа-**

Лось, что «фибробласты» из сердца куриного эмбриона в действительности имеют миогенное происхождение. Наконец, возможен и другой, чем при отрастании, механизм регенерации путем индукции. Такая возможность была исследована.

В мышцу сердца кроликов имплантировали куски скелетных мышц, обработанные в течение 48 ч в 1%-ном водном растворе трипанового синего по методу шведского ученого Г. Левандера (1964). При такой обработке ткань некротизируется, но при этом не происходит свертывания белков. Образуется избыток продуктов распада тканевых белков и нуклеиновых кислот, которые влияют на мышцу сердца и на клетки в очаге повреждения. Под влиянием этих веществ возле рассасывающегося трансплантата возникают миобласты и мышечные волокна. Другими словами, происходит регенерация путем индукции.

Многое в исследованиях по регенерации миокарда остается еще не выясненным и требует дальнейших экспериментов. Однако уже в настоящее время ясна перспективность этих исследований.

Регенерация нервной ткани

Общеизвестно, какую большую роль в жизнедеятельности организма животных и человека играет нервная система, которая регулирует функции всех органов и тканей. Между тем она часто повреждается. В связи с этим, естественно, возникает вопрос, восстанавливается ли она. В нервной системе различают три главные части; центральную нервную систему — головной и спинной мозг, периферическую — нервные стволы и нервные окончания, и вегетативную — симпатическую и парасимпатическую, которая состоит из ряда узлов или ганглиев и отходящих от них отростков, врастающих во внутренние органы и кровеносную систему.

Периферическая нервная система состоит из нервных отростков, растущих от нервных клеток или нейронов. Нервы или нервные стволы состоят, как кабель из проволоки, из совокупности нервных отростков. При перерезке нервные стволы могут регенерировать, если на их пути не возникает барьеров в виде рубцов. Периферическая нервная система обладает высокой спо-

собностью к регенерации, которая хорошо выражена у низших позвоночных, но наблюдается также и у высших. Считается, что скорость регенерации нервных стволов у млекопитающих и человека в среднем равна 1 мм в сутки. В некоторых случаях, например, при бытовых или военных травмах, бывают поражены или удалены значительные участки нервных стволов, иногда достигающие нескольких сантиметров. В этом случае сами по себе нервы не восстанавливаются, но их можно восстановить искусственным путем. Для этого к концам нерва подшивают трансплантат, состоящий из куска нервного ствола, взятого от того же или другого объекта. Иногда трансплантат лиофилизируют или консервируют в формалине или других жидкостях.

Наилучший результат получается при аутооттрансплантации нерва. От проксимального конца нерва реципиента через трансплантат и затем через дистальный конец нерва реципиента, как по рельсам, растут нервные отростки. Периферический конец нерва и трансплантат играют роль проводника для роста нервных волокон. Большое значение при этом имеют нервное вещество и так называемые шванновские клетки, находящиеся между нервными волокнами в нервном стволе. М. И. Ефимов (1966) предложил пересаживать в область дефекта нерва не один, а два нервных ствола. При этом для снижения реактивности реципиента к гомотрансплантату кроликов на 2—3 недели погружали в медикаментозный сон. Или производили дополнительную травматизацию центрального конца нерва путем его пережатия пинцетом, что стимулировало регенерацию нерва. Таким путем удавалось восстановить большие отрезки удаленного седалищного нерва у кроликов и даже собак.

Весьма важные и интересные данные были получены швейцарскими учеными в опытах с выделением веществ, стимулирующих регенерацию периферических нервов. Это вещество было выделено из головного мозга, спинного мозга или периферических нервов. Оно небелковой природы и находится в диализированной жидкости после диализа¹ экстрактов нервной ткани; теряет активность при нагревании. Авторы назвали его НР.

¹ Диализ — способ отделения коллоидов от растворенных веществ.

Его стимулирующий регенерацию эффект был **установлен** в опытах на кроликах при циркулярной перерезке нервов роговицы.

Однако наибольший успех был достигнут в лаборатории Р. Леви-Монтальчини (1952—1975). Из мышечной саркомы, яда змеи, подчелюстных желез, **мышей** и **из** симпатических или чувствительных ганглиев **крыс**, мышей, кошек, коровы или человека был выделен экстракт. Действующим началом его был белок, сильно стимулирующий рост нервных отростков нейронов при их культивировании в питательной среде вне организма или рост симпатических нервных ганглиев в организме мыши. У новорожденных **мышей** рост ганглиев происходит в 5 раз, а у взрослых мышей — в 2 раза **быстрее**. При этом гипертрофируются тела нервных клеток и их отростки — дендриты. Выделенный белок был назван фактором роста нервов — ФРН. Работу с ФРН в настоящее время ведут в ряде стран, в том числе и в Советском Союзе. ФРН строго специфичен: он **стимулирует** регенерацию или рост только симпатических нервных элементов.

Спинальный мозг состоит из совокупности нервных проводников, или **аксонов** нервных клеток. При перерезке **регенерация** спинного мозга хорошо происходит у **нижних** позвоночных — тритонов, аксолотлей, **рыб**, но у высших **позвоночных** — млекопитающих, **птиц** и **человека** — обычно не **наблюдается**. Аксоны **спинного** мозга регенерируют хуже, чем аксоны **периферической** нервной системы. **Кроме** того, их регенерации препятствует плотный рубец, развивающийся в месте перерезки; вследствие этого возникают параличи: **конечности**, **полу***чающие нервное снабжение, или иннервацию, от данного отрезка спинного мозга, перестают двигаться, а **внутренние** органы — нормально работать. Возникает **проблема** восстановления **поврежденного** спинного мозга и нарушенных функций соответствующих органов. **Эта** проблема трудная и долгое время считалась неразрешимой. Однако **за** последние 20 лет при ее **разработке** американскими и советскими исследователями **достигнуты** определенные успехи.

Американские **исследователи** (У. Уиндл, Л. Фримен и др.) предложили применить **ингибиторы** рубцевания, чтобы разрыхлить рубец в области повреждения **спинного** мозга и, таким образом, **облегчить** прораста-

ние нервных проводников **через** рубец. Для этой цели был использован пиромен — бактериальный препарат, обладающий свойством повышать температуру тела на 1—2 градуса, что само по себе для регенерации значения **не имеет**. Кроме того, были применены также некоторые ферменты, например трипсин, **которые** растворяют коллагеновый рубец.

Советские исследователи (Т. Н. Несмеянова, 1971; Л. А. Матиян, 1973; О. Г. Коган, 1975) работали с отечественным препаратом пирогеналом — аналогом пиромена, бактериальным липополисахаридом, кроме того, они использовали ферменты (трипсин, эластазу, коллагеназу и др.), а также некоторые стимулирующие регенерацию нервных отростков вещества: динитрил малоновой кислоты и др. Опыты ставили на **крысах** и **собаках**. У **животных** частично или полностью перерезали спинной мозг. Часть оставляли для контроля, остальным в определенные сроки после перерезки **шприцем** вводили дозированные препараты. Пиромен и **пирогенал** можно вводить в любое место тела, ферментные препараты — в область перерезки спинного мозга, поскольку они действуют, в основном, местно, а при **введении** под кожу или внутримышечно разносятся по всему организму и при этом утрачивают свою **активность**.

Результаты опыта были таковы. **В** контроле животные были парализованы и функции органов не **восстанавливались**. В опыте под влиянием пиромена или пирогенала рубец в области перерезки разрыхлялся и сквозь него вращали **пучки** нервных проводников, которые, далее, проникали в **дистальный** конец **спинного** мозга. В этом случае происходило частичное, иногда в значительной степени, восстановление утраченных **функций** органов. Животные **начинали** двигаться, могли стоять и даже ходить. Стимуляция регенерации аксонов способствовала восстановлению **поврежденного** **спинного** мозга. Была сделана попытка испытать действие препаратов в клинике человека для лечения так называемых спинальных больных, т. е. больных с повреждением спинного мозга. Эта попытка в принципе **дала** положительные результаты, но следует сразу же подчеркнуть, что она пока носит еще **предварительный** характер. При лечении больных встречается **много** трудностей, лечение очень длительно, и группа **леченных**

больных невелика. В этом плане в Дальнейшем предстоит сделать многое.

Интересен и **очень важен** вопрос — возможна ли регенерация головного мозга, который **играет** столь большую роль в поведении животных и особенно в жизни человека? Этот вопрос непосредственно связан а

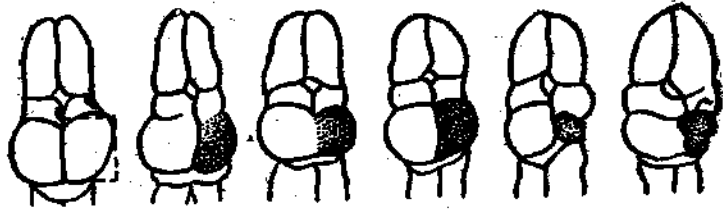


Рис. 5. Регенерация среднего мозга у головастика травяной лягушки после его частичного удаления. Несколько регенератов мозга заштрихованы, в крайнем слева случае показана пунктиром область удаления правого среднего мозга.

другим: возможно ли новообразование нервных клеток? До недавнего времени считалось, что новообразование нейронов невозможно, что нервная ткань мозга не имеет камбия, а нейроны никогда не могут делиться, что связано с их сложной структурой, специализацией. Однако за последние 20 лет в экспериментальном исследовании были получены новые данные, показывающие возможность регенерации участков головного мозга у низших позвоночных, и был пересмотрен вопрос о камбии нервной ткани головного мозга.

В точных экспериментах некоторых зарубежных и отечественных исследователей было установлено, что при удалении участков переднего, промежуточного, среднего и продолговатого мозга, а также мозжечка у рыб, тритонов, аксолотлей и головастика лягушки происходит регенерация нервной ткани мозга (рис. 5, 6). В зоне удаления мозга первой восстанавливается эпендима, или выстилка желудочков мозга. Затем на эпендиме возникает слой субэпендимальных клеток, или матрикс. Эти клетки мелкие, округлые, с плотным темным ядром. Они интенсивно делятся, в их ядрах происходит интенсивный синтез ДНК. Они мигрируют из глубины к поверхности мозга и далее из них образуются нейроны и клетки глии, т. е. клетки, подобные клеткам соединительной ткани, играющие роль стромы и

способствующие питанию нервных клеток. Постепенно стенка регенерирующего участка мозга утолщается и в ней происходит дифференцировка слоев нервной ткани, состоящей из нервных клеток с их отростками и клеток глии

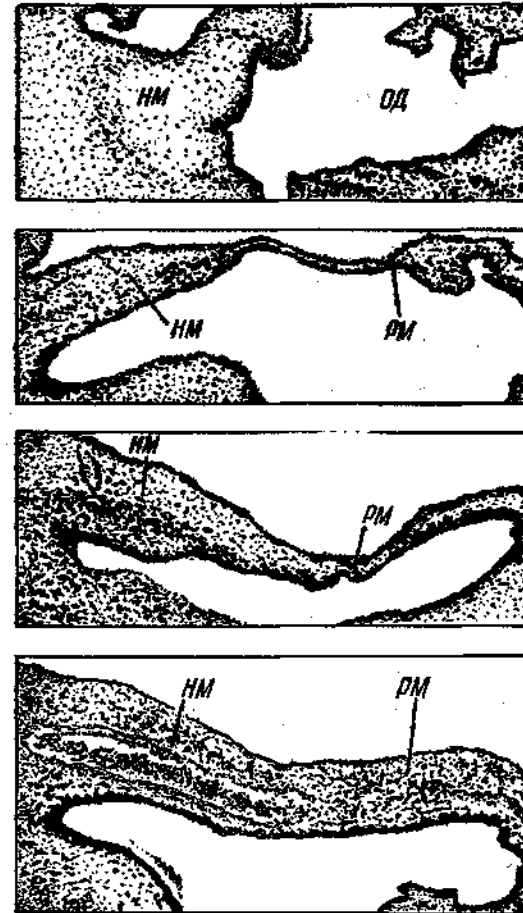


Рис. 6. Поперечные срезы в области регенерирующего мозга у головастика травяной лягушки (HM), слева — нормальный, интактный мозг (HM); последовательность хода регенерации показана в направлении сверху вниз; область дефекта (ОД).

Некоторые экспериментаторы при удалении участков головного мозга у упомянутых выше объектов не наблюдали регенерации мозга. Последующая проверка вопроса показала, что в этих случаях удалялись участки мозга вместе с матриксом, который является источником регенерации нервной ткани. Если же при удалении участков мозга матриксы оставались на месте, то мозг регенерировал. Этими экспериментами была еще раз продемонстрирована роль матрикса в регенерации нервной ткани мозга.

Известный немецкий исследователь, директор Института в университете Гумбольдта в Берлине В. Кирше (1967, 1968) провел обширное сравнительное исследование по нормальному развитию и регенерации головного мозга у позвоночных и четко продемонстрировал роль матрикса в этих процессах. Клетки матрикса имеются в течение всей жизни у низших позвоночных и их число сильно редуцируется в первые дни и недели после рождения у млекопитающих. Они являются основным источником регенерации нервной ткани головного мозга. Однако, по-видимому, не единственным источником. По данным некоторых исследователей, после повреждения головного мозга у низших и высших позвоночных наблюдается деление нервных клеток. Это явление требует особого обсуждения, которое будет проведено ниже.

Следует отметить очень интересные опыты Кирше (1965). Аксолотлям с удаленным участком переднего мозга инъецировали экстракт из мозга эмбрионов свиньи. При этом не только стимулировалась регенерация мозга, но и значительно увеличивалось количество нервных клеток в регенерате по сравнению с контролем.

Очень важно выяснить вопрос, возможна ли регенерация нервной ткани головного мозга у млекопитающих? Эксперименты в этом направлении были проведены многими исследователями. Участки коры больших полушарий удаляли у взрослых млекопитающих (собак, кошек, кроликов, крыс, мышей и др.) и у животных в возрасте от нескольких дней до нескольких недель после рождения. В результате эксперимента было установлено, что в областях дефекта нервная ткань не восстанавливается, возникают цисты, наполненные жидкостью, и рубцы. В некоторых опытах на молодых млекопита-

ющих края нервной ткани, смещаясь, сближаются и область дефекта значительно суживается, но это не регенерация.

Около зоны дефекта в первые дни после операции как у молодых, так и у взрослых животных можно видеть нейроны в состоянии первых фаз митотического де-



Рис. 7. Последовательные стадии амитотического деления нейронов в коре больших полушарий мозга у котят

ления: профазы и метафазы. Митотическое деление начинается и не заканчивается, хотя, по данным некоторых исследователей (И. С. Меписашвили, 1974), у молодых крыс наблюдали все фазы митотического деления нервных клеток. Это деление сопровождается синтезом ДНК в ядрах нейронов. Однако в целом оно мало выражено. Массовый характер носит прямое, или амитотическое, деление нервных клеток в нервной ткани коры больших полушарий вне области дефекта в оперированном и даже в неоперированном полушариях. Это деление происходит путем деления ядрышка, которое расходится и полюсам ядра, и затем путем деления стягивающегося вокруг ядрышек ядра, которое перешнуровывается. Описано также и последующее деление цитоплазмы нервных клеток (рис. 7). Подсчет делящихся клеток и их отношения к числу неделящихся клеток показал, что пик деления приходится на первые 3—5 дней после операции. В конечном счете амитоз, как и митоз, свидетельствует о делении клеток, хотя и путем другого механизма,

Амитотическое деление нервных клеток вызвано повреждением нервной ткани мозга. В связи с этим возник вопрос, нельзя ли вызвать это явление, не удаляя участки мозга, а вводя в него продукты распада нервной ткани. Из нервной ткани головного мозга крыс в условиях стерильности готовили гомогенаты и вводили их под кожу или непосредственно в головной мозг другим крысам. Затем исследовали мозг и производили подсчет числа амитотически делящихся нервных клеток на разных фазах их деления. Оказалось, как и следовало ожидать, что при подкожном введении препаратов никакого эффекта не наблюдается. Это объясняется наличием гематоэнцефалического барьера, т. е. препятствия между нервной тканью мозга и кровеносными сосудами, которое не позволяет чужеродным веществам, находящимся в крови, переходить в мозг.

При прямом введении в мозг препаратов, минуя гематоэнцефалический барьер, через 3—5 дней в нервной ткани коры больших полушарий возникали явления массового амитотического деления нейронов. Подобного рода картина наблюдалась также, если в мозг вводили диализаты мозга, т. е. вещества, проходящие через перепонку, не пропускающую белки и другие высокомолекулярные вещества, или РНК. При этом оказалось, что эти препараты можно вводить не только в мозг, но и в полости желудочков мозга, что предотвращает повреждение нервной ткани мозга, вызванное введением в него препаратов. В этих опытах мозг как бы обновляется, омолаживается.

В описанных опытах животные были взяты здоровые, интактные. Спрашивается, нельзя ли вызвать стимулирующий эффект у животных с поврежденным мозгом в условиях патологии? Патологию вызывали путем гипоксии, т. е. недостатка кислорода. Известно, что при недостатке кислорода нервные клетки мозга сильно повреждаются и многие из них погибают. Конечно, при этом речь идет о резком и сильном недостатке кислорода. В данных опытах у животных вызывали так называемую гипоксемическую гипоксию. Мышей или крыс помещали под стеклянный колокол, из которого вакуумным насосом выкачивали воздух, который одновременно поступал под колпак снаружи из другой трубочки. Понижение давления под колоколом определяли с помощью манометра. Давление понижали с 765 до 200 мм

рт. ст. Значительная часть животных погибала в явлениями клонических судорог. У остальных, переживших, нервные клетки коры головного мозга сильно повреждались: сморщивались, лизировались и затем многие из них погибали, что устанавливали путем подсчета.

В другой части опыта через некоторое время после получения гипоксии и повреждения мозга животным в мозг вводили гомогенаты мозга. Оказалось, что нервная ткань мозга у этих животных сильно изменяется под влиянием введения препарата. Число сморщенных нейронов уменьшается, число разрушающихся нейронов увеличивается и одновременно появляется множество амитотически делящихся нервных клеток. Другими словами, можно экспериментальным путем вызвать стимуляцию амитотического деления нейронов и как бы обновление нервной ткани головного мозга у животных, находящихся в состоянии гипоксии. Спрашивается, нельзя ли вызвать сходные изменения в нервной ткани мозга при других явлениях патологии, сопровождающихся дистрофией или атрофией нервных клеток? На этот вопрос должны ответить дальнейшие эксперименты.

Говоря об амитотическом делении нейронов, следует отметить одну возникшую при этом трудность. За последние годы цитологи подвергли пересмотру явление амитоза. Дело в том, что при митотическом делении клеток ему всегда предшествует синтез ДНК в ядре, содержание ДНК и число хромосом удваивается, благодаря чему после деления оно приходит к норме. Амитоз изучен значительно хуже митоза. При амитотическом делении синтез ДНК может происходить до или во время перешнуровки ядра, в результате чего возникают нормальные диплоидные ядра. По автордиографическим данным некоторых советских исследователей (И. В. Торская, 1970; И. С. Меписашвили, 1974), при амитотическом делении нейронов в мозге у млекопитающих (кошки, крысы и др.) в ядрах происходит синтез ДНК.

Совсем недавно зарубежные исследователи (Бренард и др., 1975) с помощью точных методов цитофотометрии и ультрафиолетовой микроскопии установили, что в коре больших полушарий у крыс ядра нейронов имеют двойное содержание ДНК, вдвое больше, чем в ядрах клеток глии. Эти данные могут объяснить, поче-

му amitотическое деление "таких нейронов может вовсе не сопровождаться синтезом ДНК, ибо он произошёл когда-то раньше; дочерние нейроны при этом будут иметь нормальное диплоидное содержание ДНК и хромосом. Подобное явление наблюдалось в клетках печени. После ее резекции ядра клеток печени синтезируют ДНК, содержание которой увеличивается в 2, 4, 8 и даже 16 раз. После этого клетки путем последовательных перешнуровок приходят к обычному диплоидному содержанию ДНК и хромосом.

Опыты Леви-Монтальчини, Кирше, а также опыты со стимуляцией физиологической регенерации нейронов коры больших полушарий при введении в мозг гомогената мозга подтверждают возможность стимуляции роста и регенерации нервной ткани. При этом следует подчеркнуть высокую специфичность факторов, стимулирующих регенерацию нервной ткани. Не только вещества, полученные из других тканей, не стимулируют рост и регенерацию нервной ткани, но и имеется специфичность нейрогенераторных веществ для разных отделов нервной ткани. Так, вещества, выделенные из спинного или головного мозга, не стимулируют рост и регенерацию аксонов симпатических ганглиев. Это обстоятельство необходимо учитывать при постановке соответствующих опытов или тем более при намерении применить эти данные в клинической практике.

Способы регенерации.

Регенерация путем индукции

Т. Морган (1901) выделил два основных способа регенерации: морфаллаксис и эпиморфоз. Под морфаллаксисом он понимал восстановление путем реорганизации, перестройки тканей, практически без клеточного размножения. При морфаллаксисе целый организм может восстановиться иногда из очень небольшой части тела. Морфаллаксис был установлен у гидр, планарий, асцидий и других животных. Эпиморфоз — это регенерация, происходящая путем роста тканей от раневой поверхности. Примерами эпиморфоза могут быть: регенерация конечности или хвоста у тритонов и аксолотлей, регенерация скелетной мышцы при удалении ее участка и другие случаи. Эти явления могут встречаться как

в чистом виде, так чаще и в известном сочетании друг с другом, на что обращал внимание сам Морган. За период времени, прошедший после исследований Моргана до настоящего времени, учение о регенерации обогатилось новыми данными.

Л. Д. Лиознер (1962, 1975) полагает, что к явлениям регенерации следует подходить с точки зрения топографии тканей. Исходя из этого он выделяет как особое явление или способ регенерации «регенерационную гипертрофию», о которой уже было сказано. При этом роста от раневой поверхности нет, разрастается ткань остатка органа. Кроме того, Л. Д. Лиознер предлагает отнести к особому рода категории явлений регенерацию, идущую внутри ткани органа, например, регенерацию скелетной мышцы или тканей при сквозном ранении уха у кролика. Это явление регенерации он называет энхимоморфозом. Явления, на которые обращает внимание Л. Д. Лиознер, реально существуют, но вопрос в том, особые ли это способы регенерации. Гипертрофия — важное явление, но качественно отличное от регенерации. Что касается регенерации внутри ткани (мышцы, нервы и пр.), то в этом случае, как и при регенерации от раневой поверхности ампутированной конечности, главным является рост ткани от раны, а не топография, не нахождение ее снаружи или внутри органа.

Однако оставляя в стороне спорный вопрос, как трактовать случаи «регенерационной гипертрофии» или «энхимоморфоза», обратим внимание на то, что помимо этих явлений и уже указанных морфаллаксиса и эпиморфоза есть еще одно — регенерация путем индукции. Это явление, способ или механизм регенерации, было охарактеризовано на конкретных примерах регенерации костей свода черепа и мышцы сердца у млекопитающих. В основе этого явления лежит не реорганизация, как при морфаллаксисе, не рост, как при эпиморфозе, а индукция, как при эмбриональной индукции. Эти способы или механизмы регенерации различаются не топографически, а по существу явлений, лежащих в их основе: реорганизация, рост и индукция. При выделении регенерации путем индукции как особого явления или способа регенерации речь идет не о простой классификации, которая может быть предложена на основании любого признака, а о существе процесса,

Рассмотрим некоторые примеры. При экспериментально вызванной регенерации костей свода черепа у собак процесс восстановления идет не от краев старой кости, а по всей поверхности дефекта. На клетки молодой, незрелой соединительной ткани (реагирующий материал) действуют растворяющиеся трансплантированные костные опилки (индуктор) при наличии определенных условий (твердая мозговая оболочка). В опытах имплантации в миокард кроликов кусков скелетной мышцы, обработанной раствором трипанового синего — индуктора, процесс новообразования мышечных волокон в сердце также протекает по типу индукции, реагирующим материалом являются окружающие индуктор клетки реципиента. Во всех этих случаях речь идет не о простой реорганизации и не о простом отрастании тканей от раневой поверхности, а о регенерации кости черепа или мышечных волокон сердца под влиянием индуктора. Без индуктора процесс регенерации не идет.

Для того чтобы вызвать процесс регенерации путем морфаллаксиса, нужно добиться получения реорганизации исходной ткани. Для получения эпиморфоза необходимо вызвать рост тканей от раневой поверхности. Для того чтобы получить регенерацию путем индукции, надо иметь индуктор и реагирующий материал. Механизмы восстановления в этих случаях будут различны.

Первый случай регенерации путем индукции был открыт очень давно. Это так называемая вольфовская регенерация линзы у тритонов (В. Колюччи, 1891; Г. Вольф, 1895). При удалении линзы из глаза тритона она регенерирует из верхнего края радужной оболочки и, как позднее было установлено, под влиянием сетчатки — индуктора. Это явление долгое время считали уникальным и потому никто его не рассматривал как особый способ или механизм регенерации наряду с морфаллаксисом и эпиморфозом. И только в 1957—1962 гг. оно было обнаружено в опытах по восстановлению утраченной регенерационной способности некоторых органов и тканей у млекопитающих (кости свода черепа, ткани зуба, мышца сердца). Это объясняется тем, что лишь недавно стали систематически разрабатывать проблему утраты и восстановления регенерационной способности органов и тканей у млекопитающих. Однако это явление может быть обнаружено и в некоторых других случаях. Так, Г. В. Лопашов и А. А. Сологуб

(1970) обнаружили регенерацию путем индукции сетчатки глаза у лягушки. Если из глаза лягушки удалить линзу и сетчатку, то из оставшегося пигментного эпителия ничего не образуется. Если же после удаления линзы и сетчатки в глаз лягушки пересадить кусочек сетчатки, взятый от головастика, то под его влиянием из пигментного эпителия индуцируется сетчатка. Сетчатка регенерирует путем индукции.

Несомненно, указанными примерами явление регенерации путем индукции не ограничивается, и, по всей вероятности, его можно будет обнаружить и в других случаях, что является задачей будущего.

Знание разных способов регенерации важно прежде всего потому, что оно позволяет управлять процессами регенерации. В одних случаях (эпиморфоз) надо вызвать рост тканей от раневой поверхности, в других — получить реорганизацию тканей (морфаллаксис), в третьих — создать условия для индукции в процессе регенерации.

Литература

- Войткевич А. А. Восстановительные процессы и гормоны. Л., «Медицина», 1964.
- Войткевич А. А. Регенерация и гипертрофия. — Архив патол., т. 28, № 3, 1966.
- Воронцова М. А. и Лиознер Л. Д. Физиологическая регенерация. М., «Советская наука», 1955.
- Воронцова М. А. и Лиознер Л. Д. Бесполое размножение и регенерация. М., «Советская наука», 1957.
- Лиознер Л. Д. Восстановление утраченных органов. М., Изд-во АН СССР, 1962.
- Лиознер Л. Д. Современное состояние учения о регенерации. М., «Наука», 1975.
- Полежаев Л. В. Основы механики развития позвоночных. М., Изд-во АН СССР, 1945.
- Полежаев Л. В. Утрата и возобновление регенерационной способности конечностей у бесхвостых амфибий. — Труды Института гистол. и эмбриол., т. 2, выв. 2, 1948.
- Полежаев Л. В. Утрата и восстановление регенерационной способности органов и тканей у животных. М., «Наука», 1968.
- Полежаев Л. В. и др. Стимуляция регенерации мышцы сердца. М., «Наука», 1965.
- Студитский А. Н. Экспериментальная хирургия мышц. М., Изд-во АН СССР, 1959.
- Студитский А. Н. Загадки формообразования. М., «Знание», 1977.
- Хэй Э. Регенерация. М., «Мир», 1969.