ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ: ԱՐՅԱՆ ՇՐՋԱՆԱՌՈՒԹՅՈՒՆ
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР. КРОВООБРАЩЕНИЕ
V, № 3, 1972

УДК 616.127:612744—001.092.6/9

Л. В. АХАБАДЗЕ и Н. Т. ОЛЕНИНА

СИНТЕЗ ДНК В МИОКАРДЕ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ В ПЕРИОД ПОСТНАТАЛЬНОГО ГИСТОГЕНЕЗА И ПОСЛЕ ТРАВМЫ

Существует представление, что регенерационная способность миокарда у млекопитающих падает или утрачивается в процессе онтогенеза [6]. Однако регенерационные потенции миокарда у животных раннего периода постнатального развития изучены недостаточно. Лишь в нескольких работах 50-х годов были сделана попытка исследовать регенерацию миокарда у новорожденных котят, крысят и морских свинок [7, 11, 14], но возможности исследователей были ограничены рамками светового микроскопа и процесс регенерации оценивался главным образом на основании визуальных наблюдений. П. П. Румянцев [7], Робледо [11] пришли к заключению, что миокард новорожденных способен к регенерации путем отрастания от культей, т. е. врастания миосимпластов в глубь повреждающего участка. Шлезингер [14], Райнер [14] практически не дают описания регенерационного процесса. О регенерации миокарда у сосунков морских свинок они судили по наличию случайных гигантских мускульных клеток. Как правило, в указанных опытах регенерат заполнял только часть поврежденного участка, однако П. П. Румянцев описал случаи полной регенерации миокарда у новорожденных котят. Руководствуясь этими данными, мы основное внимание уделили не только описанию гистогенеза, но и анализу пролиферативной активности и синтеза ДНК в мышечной и соединительной ткани миокарда у крысят раннего постнатального периода развития и после травмы передней стенки левого желудочка.

У новорожденных крысят диатермокоагулятором повреждали переднюю стенку левого желудочка. Мышечную ткань и кожу после операции заклеивали циакрином. Кусочки миокарда фиксировали в жидкости Карнуа через 2, 4, 6, 8, 10, 20 и 30 дней после операции. Параллельно изучали нормальный гистогенез миокарда у крысят, начиная с новорожденных и заканчивая месячным сроком развития. Для выяснения синтетической активности ДНК в ядрах мышечного и соединительнотканного происхождения за 2—4 часа до фиксации животным внутрибрюшинно вводили 0,8—1,0, μ C/г H^3-тимидин. Автографы окрашивали в основном азур П-эозином, а также гематоксилин-эозином и по ван Гизону. Индекс меченых ядер (СИ) и индекс митозов (МИ) определяли при подсчете не менее 1000 мышечных ядер и такого же количества соединительнотканных ядер у каждого животного и затем вычисляли среднее значение. На каждый срок исследования фиксировали 1—3 животных.

Постнатальный гистогенез

Динамика синтеза ДНК и митотической активности в ядрах мышечного и соединительнотканного происхождения в постнатальном периоде гистогенеза миокарда изучена в основном для компактного миокарда левого желудочка. После однократного введения H^3-тимидина метится 23,3±0,9% клеток мышечного и соединительнотканного происхождения. К группе клеток соединительной ткани мы относили все интерстициальные клетки, в том числе и образующие мелкие сосуды и собственно соединительнотканные клетки стромы (рис. 1).

У новорожденных крысят индекс меченых мышечных ядер высок и достигает 15,1±1,3% (рис. 2). Индекс меченых соединительнотканных ядер в этот период гистогенеза составляет лишь 8,2±0,9% (рис. 3), т. е. количество ДНК-синтезирующих ядер стромы примерно в 2 раза меньше количества ядер паренхимы, находящихся в состоянии синтеза ДНК. К 4-му дню развития количество ДНК-синтезирующих мышечных ядер равно 11,5±1,1%, а соединительнотканных лишь 5,3±0,6%, т. е. сохраняется та же разница. К 6-му дню количество меченых мышечных ядер продолжает падать до 7,3±0,8%, а соединительнотканных до 4,1±0,6%. К этому периоду развития разница между количеством ДНК-синтезирующих ядер в обеих группах сокращается до полутора раз, а к 8-му дню сглаживается еще больше (ср. рис. 2 и 3). На этой стадии постнатального гистогенеза наступает как бы равновесие в количестве ДНК-синтези-

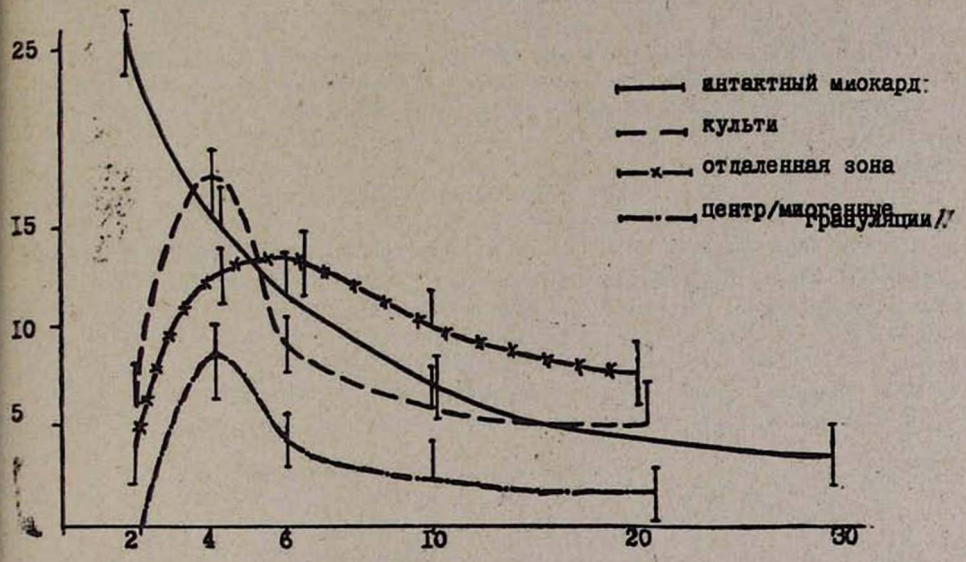

Рис. 1. Индекс меченых мышечных+интерстициальных ядер у новорожденных крысят в интактном миокарде и после повреждения.

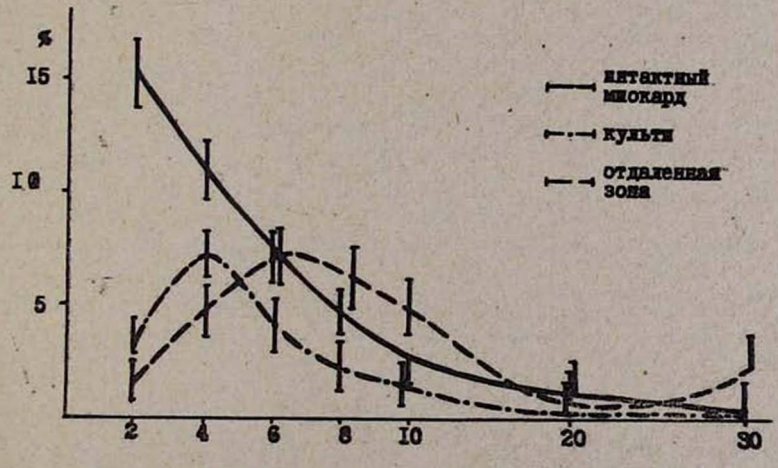

Рис. 2. Индексы меченых мышечных ядер у новорожденных крысят в интактном миокарде и после повреждения.

рующих клеток мышечной и соединительной ткани миокарда. Но уже к 10-му дню после рождения в мышечной ткани затухает синтез ДНК, тогда как в соединительной ткани синтетическая активность ДНК по сравнению с СИ в предыдущий срок практически не меняется. Через 20 и 30 дней после рождения индекс меченых мышечных ядер падает до нуля или держится на очень низком уровне (0,1—0,2%). Синтез ДНК в клетках соединительной ткани держится примерно на том же уровне, что и в ранее изученных сроках исследования. Отставание в темпе синтеза ДНК в мышечной ткани миокарда после 10-го дня развития сохраняется до 30-го дня развития.

Исследование синтеза ДНК и пролиферативной активности в мышечных и соединительнотканных ядрах миокарда новорожденных крысят после повреждения

СИ в поврежденном миокарде определяли среди мышечных и соединительнотканных клеток в 3 зонах: в центре очага повреждения, в зоне, прилежащей к очагу повреждения, и в зоне, отдаленной от места травмы. МИ высчитывали в тех же зонах для клеток мышечной ткани.

Центр очага повреждения

Невозможность отдифференцировать по морфологическим критериям миогенные элементы от клеток молодой соединительной ткани в световом микроскопе не позволяет учитывать эти клетки раздельно. Поэтому все клетки, находящиеся в центре очага повреждения, мы относим к категории миогенных грануляций по Оппелю [5], т. е. к клеткам, принимающим участие в образовании рубца. Коагуляция разрушает все структуры, находящиеся в центре очага повреждения, поэтому через 2 дня опыта здесь не наблюдаются клетки или единичные клеточные элементы без метки. Через 4 дня после

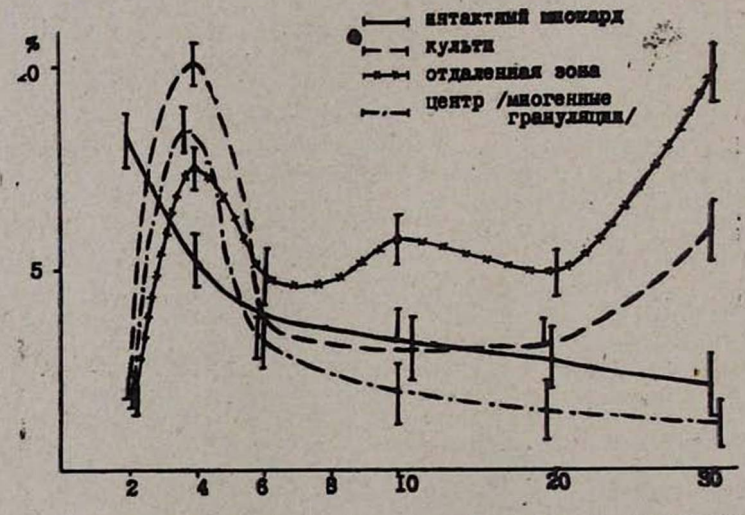

Рис. 3. Индексы меченых соединительнотканных ядер у новорожденных крысят в интактном миокарде и после повреждения.

повреждения процент меченых соединительнотканных клеток значительно превышает СИ соединительнотканных ядер в интактном миокарде ($u > 1{,}96$). К 6-му дню эксперимента СИ в клетках центра очага повреждения начинает снижаться (рис. 3). После 8—10-го дня СИ клеток соединительной ткани в центре очага повреждения и в интактном миокарде достоверно не различаются. Единичные мышечные волокна, разбросанные в центре очага повреждения, и группы их, наблюдаемые на 10-й день опыта, содержат немеченые ядра. Генезис этих волокон требует расшифровки.

Зона, прилегающая к очагу повреждения (культи мышц)

Через 2 дня после повреждения резко снижается количество мышечных и соединительнотканных ядер, синтезирующих ДНК, по сравнению с исходной величиной (интактный миокард). Число меченых мышечных ядер падает почти на 12% по сравнению с СИ в интактном миокарде, а соединительнотканных—на 6% (рис. 2, 3). Индекс митозов в мышечной ткани в этот период снижается до 0,9%. Многие фигуры митотического деления явно нарушены. Через 4 дня процент меченых мышечных ядер повышается, но остается в 2 раза ниже, чем в интактном миокарде. Индекс митозов миоцитов в зоне повреждения продолжает снижаться и к 4-му дню эксперимента достигает 0,5—0,6%. В этот же период СИ в ядрах соединительной ткани увеличивается более, чем в 5 раз по сравнению с СИ в интактном миокарде. Гистологически в эти сроки наблюдается некоторая отечность мышечных культей. Во многих из них поперечная исчерченность почти не выявляется, некоторые культи начинают заостряться и окружаются накапливающимися по периферии клетками соединительной ткани. Через 6 дней СИ мышечных и соединительнотканных ядер падает. СИ мышечных ядер падает примерно в полтора раза, а соединительнотканных более, чем в 2 раза по сравнению с таковыми в ранее изученный срок. СИ мышечных ядер культей до 8-го дня опыта намного ниже СИ мышечных ядер в интактном миокарда, затем процент меченых мышечных ядер в миокарде, прилежащем к очагу повреждения, становится таким же, как СИ в интактном миокарде этого периода развития (см. рис. 2). В области мышечных культей накапливается большое количество ДНК-синтезирующих клеток соединительной ткани. СИ ядер соединительной ткани с 4-го по 6-й день опыта намного выше СИ клеток соединительной ткани в интактном миокарде ($u>1,96$). В более поздние сроки опыта СИ соединительнотканных ядер достоверно не отличается от СИ ядер стромы в интактном миокарде за исключением 30-го дня эксперимента (см. рис. 3).

Участок миокарда, отдаленный от очага повреждения

Как и в мышце, прилежащей к очагу повреждения, в участке миокарда, отдаленном от места травмы, СИ мышечных и соединительнотканных клеток через 2 дня после повреждения снижен по сравнению с СИ интактного миокарда (рис. 2, 3). Только к 6-му дню опыта СИ мышечных ядер достигает уровня СИ в интактном миокарде и до 20-го дня опыта достоверно не превышает уровень СИ интактного миокарда (рис. 2). В отдаленной от места травмы зоне миокарда процент меченых соединительнотканных ядер уже через 4 дня опыта поднимается выше нормы (интактный миокард). В более поздние сроки наблюдения СИ ядер соединительной ткани в этой зоне несколько снижается, но остается достоверно выше нормы (рис. 3). МИ мышечной ткани в этой зоне изменяется аналогично МИ миоцитов в зоне, прилежащей к очагу повреждения и МИ в интактном миокарде.

На основании проведенного гистологического и радиоавтографического исследований можно прийти к следующим заключениям:

1. У новорожденных крысят после коагуляции передней стенки левого желудочка сердца очаг повреждения рубцуется; 2. В области мышечных культей и в отдаленном от места травмы миокарде количество ДНК-синтезирующих клеток соединительной ткани через 4 дня после повреждения (наивысшая точка) достоверно превышает количество меченых клеток миогенного происхождения; 3. В области мышечных культей процент меченых мышечных ядер достоверно ниже процента подобных ядер в интактном миокарде до 6-го дня опыта; 4. В отдаленном от места травмы участке миокарда с 6 дня эксперимента процент ДНК-синтезирующих мышечных ядер достоверно выше, чем СИ ядер мышечных культей и практически не отличается от СИ мышечных ядер интактного миокарда.

Обсуждение результатов. Органогенез миокарда таких млекопитающих, как мышь и крыса, в период эмбрионального развития полностью не завершается. Об этом свидетельствуют данные как электронномикроскопического, так и радиоавтографического исследования [4, 13]. В миокарде этих животных и после рождения продолжается нарастание количества мышечных элементов, регистрируемое по наличию меченых TH^3 ядер и их митозов [1, 2, 3, 8]. В этот же период происходит увеличение количества и клеток интерстиция [11, 12]. Известно, что сердце в ответ на местное повреждение способно реагировать не только локально, но и целиком как орган, что показано в опыте с повреждением мышц левого желудочка и ответной реакцией в аурикулярных мышцах предсердия [9]. В этих мышцах происходила дерепрессия синтеза ДНК, усиливалась митотическая активность, они обогащались РНК. Поэтому возникла необходимость уточнить сведения о регенерационной способности миокарда у новорожденных крысят. После диатермокоагуляции процент мышечных и интерстициальных ядер, способных синтезировать ДНК, резко падал не только в зоне, непосредственно соприкасающейся с очагом повреждения, но и в зоне миокарда, отдаленной от места травмы. Это еще раз подтверждало представление о том, что сердце реагирует на повреждение не только регионально. Снижение синтетического и митотического индекса в ранние после повреждения сроки можно, по-видимому, объяснить нарушением трофики тканей, вызванной коагуляцией. Следует отметить, что снижение СИ и МИ в миоцитах культей и отдаленного от места травмы миокарда в первые дни после повреждения происходило асинхронно (см. рис. 2). Отставание в снижении МИ по сравнению с сильными сдвигами в СИ можно, вероятно, объяснить тем, что в митоз после травмы некоторое время продолжали вступать клетки, прошедшие s период до начала повреждения Вероятно, для того, чтобы от культей могли регенерировать мышечные отростки, именно в этой области должны были разыграться наиболее активные пролиферативные процессы, т. е. в первую очередь синтез ДНК. Активность синтеза ДНК в мышечных культях в случае хорошо идущей регенерации, по-видимому, должна была бы быть, по крайней мере, равной активности синтеза ДНК в мышечной ткани интактного миокарда, или в случае полного заполнения поврежденного участка мышечным регенератом превосходить его. Однако радиоавтографический анализ материала с импульсной меткой показал, что до 10-го дня опыта СИ мышечных ядер культей достоверно ниже СИ мышечных ядер интактного миокарда. Рубец к этому времени уже достаточно хорошо сформирован.

Не исключено, однако, что при однократном введении меченого тимидина невозможно было уловить истинную разницу в синтетической активности ДНК в различных зонах поврежденного и интактного миокарда. После повреждения продолжительность периодов генерационного цикла могла значительно модифицироваться. Если это действительно произошло и, предположим продолжительность s периода сократилась, то при неизмененном времени всего цикла после однократной инъекции TH^3 количество ДНК-синтезирующих клеток было бы зарегистрировано в меньшем количестве, чем в тех зонах, где время s периода не менялось, и в том числе и в интактном миокарде. Вопрос этот нуждается в тщательном изучении.

Особого внимания в процессе регенерации миокарда заслуживает рассмотрение и изучение корреляций между развитием соединительной и мышечной ткани, так как характер и ход регенерационного процесса в значительной мере зависит от взаимоотношений, складывающихся между этими типами тканей. Не претендуя на полноту исследования корреляции между этими тканями в гистогенезе и при регенерации, тем не менее необходимо отметить, что синтез ДНК в клетках соединительной ткани после повреждения наиболее сильно выражен в зоне мышечных культей (рис. 3). Это не может не отразиться на регенерации мышечных отростков в этой области. Исследуя заживление поврежденной области, нельзя также не учитывать того, что в результате повреждения активируется не только собственная интерстициальная ткань миокарда, но и возможна трансформация в клетки соединительной ткани пришлых кровяных элементов [10], в обилии окружающих очаг повреждения в ранние сроки после травмы. Анализ кривых, отражающих динамику синтеза ДНК (рис. 2) и пролиферацию в

миоцитах, непосредственно затронутых повреждением (мышечные культи), и в миоцитах неповрежденных (отдаленный миокард), позволяет уловить значительную тождественность сдвигов в СИ и МИ в обеих зонах. Усиление митотического и синтетического индекса в неповрежденных миоцитах связано с усилением процесса роста Так как в области мышечных культей не происходило «сверхростового» усиления СИ и МИ, можно полагать, что и в этой зоне также шел процесс роста, а не регенерации миокарда.

В нашем эксперименте с диатермокоагуляцией стенки сердца у новорожденных крысят по совокупности гистологических и радиоавтографических данных можно прийти к заключению, что пролиферация мышечных клеток на краю очага повреждения отражает не регенерационный процесс, а связана с постнатальным ростом органа.

Ин-т биологии развития
АН СССР

Поступило 16/III 1971 г.

Լ. Վ. ԱԽԱԲԱԶԵ և Ն. Գ. ՕԼԵՆԻՆԱ

ԴՆԿ-Ի ՍԻՆԹԵԶԸ ՆՈՐԱԾԻՆ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՍՐՏԱՄԿԱՆՈՒՄ ՊՈՍՏՆԱՏԱԼ ՀԻՍՏՈԳԵՆԵԶԻ ՇՐՋԱՆՈՒՄ ՎՆԱՍՎԱԾՔԻՑ ՀԵՏՈ

Ամփոփում

Նորածին առնետների վրա կատարած փորձերը ցույց տվեցին, որ վնասվածքի ծայրամասում մկանային բջիջների զարգացումը ոչ թե ռեգեներացիոն պրոցես է, այլ կապված է օրգանի պոստնատալ աճի հետ։

L. V. AKHABADZE, N. G. OLENINA

SYNTHESIS OF DNA IN THE MYOCARDIUM OF NEWLY-BORN RATS DURING POTS-NATAL HISTOGENESIS AND AFTER TRAUMA

Summary

Experiments on newly-born rats have shown that the proliferation of muscular tissues at the edge of the traumatic lesion does not reflect the regeneration process but is connected with the post-natal growth of the organ.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ахабадзе Л. В.* и *Мингареева Л. А.* Материалы гистологической конференции, посвященной 100-летию кафедры гистологии Военно-медицинской Академии, 1968, 14—15. 2. *Ерохина И. Л.* Цитология, 1968, 10, 12, 162—172. 3. *Ерохина И. Л.* Цитология, 1968а, 10, 11, 1391—1409. 4. *Жинкин Л. Н.* и *Румянцев П. П.* (Jinkine L. N. et Roumiantsev P. P.) В сб.: «Из последних достижений Советской анатомии», 1970, 178—191. 5. *Оппель* В. (Oppel W.) Virch. Arch. 1901, 164, 406—436. 6. *Полежаев Л. В.* Утрата и восстановление регенерационной способности органов и тканей у животных. Наука, 1968. 7. *Румянцев П. П.* Канд. дисс., 1953. 8. *Румянцев П. П.* *(Roumyantsev P. P.)* Folia histochem. cytochem. 1963, 1, 463—471. 9. *Румянцев П. П.* и *Миракян В. О.* Цитология, 1968, 10, 10, 1277—1287. 10. *Хрущов Н. Г.* Функциональная цитохимия рыхлой соединительной ткани. Наука, 1969. 11. *Robledo M.* Am. J. Path. 1956. 32, 1215—1239. 12. *Sasaki Rikuro, Morighita Toghiaki, Jamagata* J. Sholchi Tohoku Exptl. Med. 1970, 1, 1—13. 13. *Schibler T. H. a Wolff H. Z.* Zelliforsch. 1966, 69, 22—30. 14. *Schlesinjer M. a Reiner L.* Am. J. Path. 1955, 31, 443—460.