

## ВЛИЯНИЕ РЕАМПУТАЦИИ, ТЕМПЕРАТУРЫ И ОСВЕЩЕННОСТИ НА СКОРОСТЬ РЕГЕНЕРАЦИИ ХВОСТА У СРЕДНИХ ЯЩЕРИЦ

Х.О.Нагапетян, Л.А.Матинян, М.В.Антонян, Ш.В.Григорян,  
Дж.А.Мирзоянц, А.В.Петросян

*/Институт физиологии им. Л.А.Орбели НАН РА/  
375028 Ереван, ул. Бр.Орбели, 22*

*Ключевые слова:* ящерица, спинной мозг, регенерация

Еще в XVIII столетии высказывалось мнение о том, что спинной мозг (СМ) амфибии относится к числу регенерирующих структур [20]. Muller[14], детально изучая восстановление СМ в регенерирующем хвосте тритона, показал возможность его восстановления при повреждениях, отмечая, что новый СМ возникает за счет клеток эпендимы оставшегося СМ. Такие результаты описаны и в других работах [3,4]. Сарогасо [3] показал, что во вновь образованном хвосте появляющиеся новые волокна образуются путем удлинения оставшихся волокон, а некоторая часть, возможно, формируется из вновь дифференцировавшихся клеток, возникших в результате пролиферации клеток центрального канала. По данным Sgobbo [19], у взрослых тритонов СМ полностью регенерируется во вновь образовавшихся хвостах. Такие же данные приводятся и в работах других авторов, также наблюдавших регенерацию СМ [9,10] и спинномозговых ганглиев [5] у взрослых тритонов, которой предшествовало образование дуг позвонков в новом хвосте [10]. О регенерации СМ, спинномозговых ганглиев и хвоста у амфибий указывается и в других работах [1,8,11,17,23,25], в которых показано, что в регенерировавшем СМ образуются новые нервные клетки и нервные волокна. Последние происходят из концов перерезанных волокон, отчасти из вновь образованных клеток.

При изучении регенерации центральной нервной системы, и в частности СМ, а также хвоста у ящериц, некоторые авторы [18,19] утверждали, что в регенерировавшем хвосте вместо СМ и спинномозговых ганглиев содержится лишь эпителиальный тяж. Однако Stefanelli [21–23] и другие [12], изучая регенерацию у средних ящериц и геккона, нашли, что некоторая регенерация СМ все-таки происходит. Установлено, что чувствительную иннервацию регенерировавший хвост получал от трех последних пар спинномозговых ганглиев области культи, клетки которых были гипертрофированы [2]. То же самое происходило и с двигатель-

ными нейронами, иннервирующими мышцы хвоста [21–23]. Stefanelli [21–23], Boffoni [2], изучая регенерацию хвоста личинок тритона после 5- или 6-кратной ампутации через различные промежутки времени, отмечали регенерацию Маутнеровского волокна при каждой ампутации. Однако в этих работах не было обращено внимания на динамику регенерации хвоста и Маутнеровского волокна при каждой ампутации. Rossi [15,16] при перерезке СМ у змей в период спячки признаки регенерации установил лишь спустя 12 дней после операции, т.е. значительно позже, чем при перерезке, произведенной в период активности животных.

В исследованиях последних лет [6,7] установлена возможность регенерации центральной нервной системы у ящериц после избирательного повреждения отдельных участков мозга нейротоксином 3-ацетилпиридином. Предыдущими нашими исследованиями [13] также была показана возможность регенерации СМ и хвоста у ящериц после ампутации последнего. В настоящей работе ставилась задача изучить влияние повторных ампутаций хвоста, температуры окружающей среды и освещенности на динамику регенерации СМ и хвоста у ящериц.

### Материал и методы

Опыты проводились на 46 взрослых ящерицах среднего вида (*Lacerta Trilineata*) в двух сериях. У ящериц первой серии проводилась ампутация хвоста с удалением 2/3 (оставалась 1/3 часть хвоста от анального отверстия). У ящериц второй серии спустя 30 дней после первой ампутации хвоста проводилась реампутация вновь сформированного регенерата с охватом его небольшой (около 2 мм) интактной (проксимальной) части. Прооперированные ящерицы каждой серии разбивались на четыре подгруппы. Каждая подгруппа животных содержалась в отдельном террариуме с определенным температурным режимом и освещенностью. Террариумы с животными первых подгрупп обеих серий находились при температуре окружающей среды 10–11°C и дневном освещении с интенсивностью 100 люкс (на уровне животных), вторых подгрупп — при 28–29°C и 100 люкс, третьих подгрупп — 33–34°C и 100 люкс, а четвертых — при температуре 37–38°C и круглосуточном освещении с интенсивностью 500 люкс (таблица). В качестве корма использовались мучные черви. В динамике проводилось сравнительное изучение скорости протекания регенеративных процессов в ампутированном хвосте, в том числе и морфологическое. После 30-дневного наблюдения проводилась декапитация животных с извлечением головного мозга и СМ. В гомогенате этих нервных структур определялось содержание нейроактивных аминокислот аспартата, глутамата, гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) и одного из компонентов фосфолипидов — этаноламина.

## Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что при температуре окружающей среды 10–11°C и освещенности 100 люкс ящерицы обеих серий, а также и интактные стали малоподвижными, не брали пищу и постепенно впадали в спячку. Одновременно наблюдалось резкое замедление регенеративных процессов вплоть до их полной остановки, и за 20–30 дней наблюдения отмечалось лишь образование эпителизации культи поперечника ампутированного хвоста (табл., рис.).

Таблица

Зависимость скорости регенерации хвоста ящериц от первичной и повторной ампутации, а также от температуры внешней среды и освещенности

| Серия опыта                               | Количество животных | Температура (°C) | Освещенность (люкс)  | Длина хвостового регенерата (мм) |                  |                     |                  |
|-------------------------------------------|---------------------|------------------|----------------------|----------------------------------|------------------|---------------------|------------------|
|                                           |                     |                  |                      | 15-й день                        |                  | 30-й день           |                  |
|                                           |                     |                  |                      | длина                            | ср. суточн. рост | длина               | ср. суточн. рост |
| Первичная ампутация хвоста                | 7                   | 10 - 11          | дневное (100)        | 0                                | 0                | эпителизация культи | 0                |
|                                           | 6                   | 28 - 29          | дневное (100)        | 3,50±0,4                         | 0,23             | 9,20±1,3            | 0,31             |
|                                           | 7                   | 33 - 34          | дневное (100)        | 4,50±0,8                         | 0,30             | 10,09±0,9           | 0,34             |
|                                           | 5                   | 37 - 38          | круглосуточное (500) | 7,83±1,0                         | 0,52             | 13,12±1,1           | 0,44             |
| Повторная ампутация (удаление регенерата) | 6                   | 28 - 29          | дневное (100)        | 7,50±0,9                         | 0,50             | 17,00±1,1           | 0,57             |
|                                           | 7                   | 33 - 34          | дневное (100)        | 10,11±0,8                        | 0,67             | 19,45±1,9           | 0,65             |
|                                           | 8                   | 37 - 38          | круглосуточное (500) | 16,33±1,3                        | 1,04             | 41,52±2,2           | 1,38             |

Градуированное повышение температуры окружающей среды (террариума) приводило к постепенному увеличению активности экспериментальных животных: наблюдалось постепенное увеличение их подвижности, они начинали хватать мучных червей, убегать от преследования. Одновременно наблюдалось постепенное восстановление регенеративной способности ампутированного хвоста. Наивыраженная активность животных и увеличение скорости регенерации ампутированного хвоста отмечались при температуре окружающей среды 37–38°C и круглосуточном освещении террариума интенсивностью 500 люкс. Регенеративные способности ампутированного хвоста более бурно и интенсивно (в несколько раз интенсивнее) проявлялись у животных второй опытной серии, т.е. у ящериц, перенесших реампутацию хвоста спустя 30 дней после первой (табл., рис.). Так, если на 15-й день ампутации хвоста у ящериц первой

серии (после первичной ампутации) длина вновь сформированного хвостового регенерата при температуре  $37-38^{\circ}\text{C}$  составляла  $7,83 \pm 1,0$  мм и средний суточный рост —  $0,52$  мм, а спустя 30 дней —  $13,12 \pm 1,1$  мм, и  $0,44$  мм соответственно, то у животных второй серии эти данные составляли  $16,33 \pm 1,3$  мм и  $1,04$  мм на 15-й день и  $41,52 \pm 2,2$  мм и  $1,38$  мм на 30-й день соответственно, т.е. у животных с реампутированным хвостом процесс формирования нового регенерата протекал в 2,09 раза быстрее на 15-й и в 3,16 раза на 30-й день исследования по сравнению с первично ампутированными.

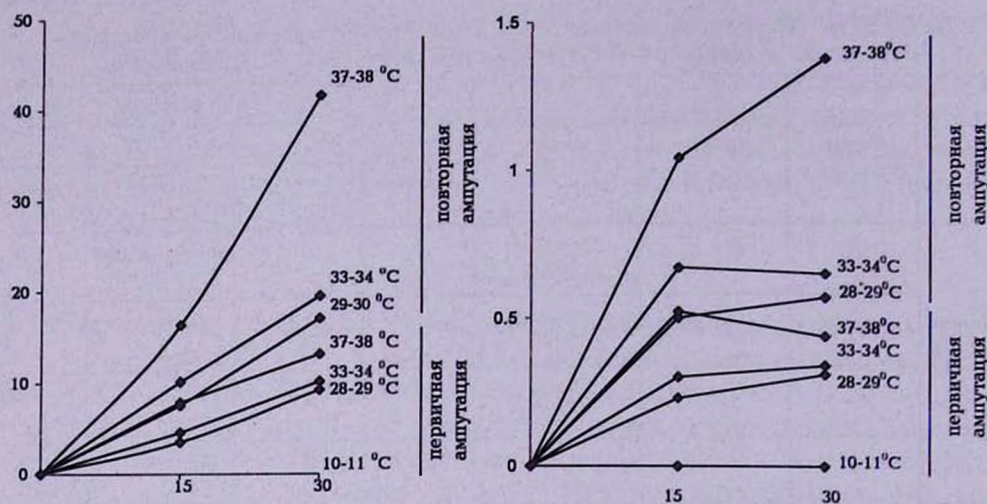


Рис. Зависимость скорости регенерации (левая диаграмма) и суточного роста (правая диаграмма) хвоста ящериц от первичной ампутации, реампутации, температурного и светового факторов. По оси абсцисс — сутки, по оси ординат — длина регенерата в мм

Морфологические исследования показали, что в регенерировавшем хвосте обнаруживается прорастание перерезанных нервных волокон, берущих начало от интактной культи и идущих вдоль новообразованного спинномозгового канала.

Определение содержания нейроактивных как возбуждающих (глутамат, аспартат), так и тормозящих (ГАМК) аминокислот и компонента фосфолипидов — этаноламина в гомогенате головного и спинного мозга ящериц показало возрастание их количественного содержания к 15-му дню исследований, что более интенсивно проявлялось у особей, перенесших первичную ампутацию хвоста по сравнению с повторным удалением вновь образованного регенерата.

Анализ полученных данных показывает, что хвост и СМ средних ящериц обладают регенеративной способностью, что подтверждается данными литературы [2,3,6,7,12–14,21–23]. Однако, как указывалось выше, эти процессы со снижением температуры окружающей среды резко

замедляются и почти прекращаются. Аналогичные данные приводятся и в работах Rossi [15,16], также установившего сильное замедление регенеративных процессов СМ у змей в период спячки. Вероятно, это можно объяснить снижением обменных процессов при низких температурных режимах, направленных на выживание и сохранение вида.

С увеличением температуры окружающей среды, интенсивности и длительности освещения наблюдавшееся ускорение регенеративных процессов у ящериц объясняется повышением их активности и усилением обменно-восстановительных процессов. Более важным, на наш взгляд, является тот факт, что, помимо влияния оптимального температурного и светового режимов, на регенеративные процессы ампутированного хвоста и СМ у ящериц весьма положительно влияют повторные их ампутации (реампутации), при которых формирование нового хвоста со СМ происходит в 2–3 раза быстрее, чем после первичных ампутаций. О возможности формирования нового хвоста у ящериц и тритонов после однократной ампутации и многократных реампутаций, как уже отмечалось, указывается и в работах других авторов [2,21–23].

Подытоживая приведенные данные, можно заключить, что у средних ящериц после ампутации хвоста со СМ наблюдается процесс регенерации с восстановлением их функций и структуры. Однако скорость их восстановления зависит как от температуры окружающей среды, так и от интенсивности и длительности их освещения. Оптимальное ускорение регенеративных процессов у ящериц наблюдается при температуре внешней среды 37–38°C и круглосуточной освещенности с интенсивностью света 500 люкс. Наиболее выраженное ускорение регенеративных процессов СМ и хвоста с восстановлением их функций и структуры наблюдается у ящериц, перенесших реампутацию вновь образованного хвостового регенерата. Ускорение восстановительных процессов, вероятно, можно связать с теми иммунобиологическими сдвигами в организме, которые возникают после первичной ампутации хвоста и направлены на преодоление последствий перенесенной травмы.

Поступила 09.03.99

**ԱԵԱՄՊՈՒՏԱՅԻԱՅԻ, ՉԵՐՄՈՒԹՅԱՆ ԵՎ ԼՈՒՍԱՎՈՐՈՒԹՅԱՆ  
ԱԶԳԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՄԻՋԻՆ ՄՈԳԵՄԵՐԻ ՊՈՉԻ ՌԵԳԵՆԵՐԱՅԻԱՅԻ  
ԱՐԱԳՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ**

**Խ.Հ.Նահապետյան, Լ.Ա.Մատինյան, Մ.Վ.Անտոնյան, Շ.Վ.Գրիգորյան,  
Զ.Ա.Սիրգոյանց, Ա.Վ.Պետրոսյան**

Աշխատանքում ցույց է տրված, որ միջին մողեսների պոչի հատումից հետո տեղի է ունենում նրա ռեգեներացիան՝ ֆունկցիայի և կառուցվածքի վերականգնումով: Սակայն այդ գործընթացների արագության ընթացքը կախված է շրջապատի ջերմաստիճանի, լուսավորության ուժգնությունից և տևողությունից: Վերականգնողական գործընթացների օպտիմալ արագացում է դիտվում միջավայրի 37-38°C օդի ջերմության և 500 լյուքս ուժգնությամբ շուրջօրյա լուսավորության դեպքում:

Ռեգեներատիվ գործընթացների առավելագույն արագացում դիտվում է վերականգնված պոչի կրկնակի հատումից հետո:

Kh.H.Nahapetyan, L.A.Matinyan, M.V.Antonian, Sh.V.Grigorian,  
J.A.Mirzoyants, A.V.Petrosian

It has been shown that in mean lizards after tail amputation together with the spinal cord the process of regeneration is observed together with restoration of their functions and structures. The rate of these processes depends on the environment temperature, the illumination intensivity and duration. The optimal acceleration of the regenerative processes is observed at the environment temperature of 37-38° C and the twenty-hour illumination with the light intensivity of 500 lux. The most expressed acceleration of the spinal cord and tail regenerative processes with their functional and structural restoration is observed in lizards having suffered reamputation of the newly formed tail regenerat. The regenerative processes acceleration, perhaps, may be associated with the immune-biological changes in the organism, which occur after the initial tail amputation and are directed to the recovery of the trauma consequences.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Пайем Дж. В кн: Регенерация центральной нервной системы. М., 1959, с.20.
2. Boffoni G.M. Atti.Accad [naz] Lincel. Rend.cl.sc.fisnat., Ser.VIII, 1952, 12, p.189.
3. Caporaso L. Beit.path.Anat., 1899, 5, p.67-98.
4. Colucci V. Mem.Accad.Sc.ist Bologan., Ser.1, 1884, 6, p.501.
5. Duesberg J.C. Rend.Soc.Biol., 1924, 90, p.633.
6. Font E., Garcia-Verdugo J.M., Alcantara S., Lopezgarcia C. Brain Res., 1991, 551, p.230.
7. Font E., Desfilis E., Rerer Caellas M. et al. Brain Res., 1997, 754, p.245.
8. Goldfarb A.J. J.Esp.Zool., 1909, 7, p.643.
9. Harms W. Arch.ges.Physiol., 1910, 132, p.353.
10. Holtzer H., Holtzer S., Avery G.B. J.Morph., 1955.
11. Locatelli P. Arch.Entwaech., 1929, 114, p.686.
12. Marotta M. Atti.Accad [naz] Lincel. Rend.cl.sc.fisnat., Ser.VIII, 1946, 1, p.1367.
13. Matinian L.A., Nahapetian Kh.H., Antonian M.V., Petrosian A.V., Mirzoyanz Zh.A. 9th Int.Conf.Mechanics Med.Biol., 1996, Lubliana, Slovenia, p.248.
14. Muller H. Abh.sencken naturf.Ges. Frankfurt, a.M., 1864-1865, 5, p.113.
15. Rossi O. Riv.Pat.Nerv., 1910, 15, p.201.
16. Rossi O. Arch.Ital.Biol., 1910, 54, p.30.
17. Santa B. Arch.Zool.Ital., 1951, 36, p.105.
18. Sgobbo F. Lavori Cong.med.int., Milano, 1890, 3, p.328.
19. Sgobbo F. Psichiatria, Napoli, 1890, 8, p.294.
20. Spallanzani L. Modena, Montanari G. Prodrómo di un opera da imprimetsi sopra le riproduzioni animali dato in luce. 1768.
21. Stefanelli A. Atti.Accad.pont.Sc., 1945, 8, p.135.
22. Stefanelli A. Genetic Neurology. (P.Weiss, ed.), Chicago, 1950, p.210.
23. Stefanelli A. Boll.Zool., 1951, 18, p.279.
24. Terni T. Arch.Ital.Anat., 1920, 17, p.507.
25. Thernes G. Rend.Semin.Sc.Cagliari, 1950, 20, p.1.