

Л. В. ПОЛЕЖАЕВ

**НОВООБРАЗОВАНИЕ МЫШЦ В МИОКАРДЕ У КРОЛИКОВ
ПРИ ИМПЛАНТАЦИИ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ, ОБРАБОТАННЫХ
ТРИПАНОВЫМ СИНИМ**

(Представлено академиком А. И. Опариным 11 X 1974)

При обычных условиях повреждения мышца сердца у взрослых млекопитающих не регенерирует и в очагах некроза возникает рубцовая соединительная ткань⁽¹⁰⁾. Однако, как нами ранее было показано⁽³⁾, при гомотрансплантации в миокард взрослым кроликам куска скелетной мышцы, некротизированной после 48-часовой обработки в 1% водном растворе трипанового синего по методу⁽⁸⁾, трансплантат фагоцитируется, а рядом с ним заново образуются мышечные волокна. Они имеют характер гибридных: ядра в них множественные, как в скелетных мышечных волокнах, но расположены они не на периферии, а в середине волокон, образующих синцитий, как сердечные мышечные волокна. Поперечная исчерченность у них выражена слабо. Это новообразование мышц в миокарде можно объяснить по-разному: 1) как регенерацию из каким-то образом переживших мышечных элементов трансплантата; 2) как индукцию трансплантатом мышц из каких-то клеточных элементов реципиента.

Цель настоящей работы — выяснить: 1) можно ли при имплантации в миокард кроликов куска скелетной мышцы, обработанной трипановым синим, получить новообразованные вполне дифференцированные мышечные волокна? 2) какого типа, скелетного или сердечного, новообразованные мышечные волокна? и 3) из клеток трансплантата или хозяина возникают новообразованные мышечные волокна? Мы предположили, что улучшить дифференцировку новообразованных мышц можно, применив не гомо-, а аутооттрансплантацию скелетных мышц, обработанных трипановым синим. Для решения вопроса, являются ли источником новообразования мышц клетки донора или реципиента, мы использовали различия в половом хроматине. По данным⁽²⁾, в скелетных и сердечных мышечных волокнах у кроликов-самок интерфазные ядра с половым хроматином встречаются в 40—60%, а у самцов — в 1—4% случаев. Мы поставили серию опытов для того чтобы выяснить, можно ли получить новообразование мышц, имплантируя в миокард куски сердечной мышцы, обработанные трипановым синим. В качестве контроля ко всем опытам использовали имплантацию в миокард кусочков батиста.

Материал и методика. Опыт был поставлен на взрослых кроликах породы «Шиншилла» весом 2,5—3,5 кг, самцах и самках. Операции на сердце проводили по прежней методике⁽³⁾. В условиях строгой асептики под уретановым наркозом медианно разрезали грудину, вскрывали перикард, глазным ножиком делали карман длиной 5—7 и шириной 3—4 мм в середине передней стенки левого желудочка сердца и имплантировали в карман кусочек скелетной или сердечной мышцы, обработанной трипановым синим. На рану сердца накладывали 1—2 шва атравматической иглой АКИ № 40. Послойно зашивали грудину и кожу. После операции в течение 3—4 дней кролики получали до 20 000 м.е. пенициллина. Как правило, раны заживали без нагноения. В других случаях в миокарде де-

лали узкий карман длиной 5—7 и шириной 2 мм и в него через толстую иглу диаметром 1,5 мм шприцем с ввинчивающимся поршнем вводили приблизительно 5—8 мм³ измельченной мышцы, обработанной трипановым синим. За два дня до операции в условиях строгой асептики для имплантации брали кусочки мышц бедра и миокарда размером 6×3×3 мм и помещали их в стерильный 1%-ный водный раствор трипанового синего типа Gurr 2691 * и выдерживали в нем в течение 48—50 час. Животных забивали в сроки от 3—24 дней после операции на сердце. Из мышцы сердца вырезали куски, содержащие имплантаты, и фиксировали их в 10% формалине. Для контроля фиксировали куски скелетных и сердечных мышц без обработки и после обработки в трипановом синем. Объекты резали сериально толщиной 5—7 мкм и окрашивали гематоксилин-эозином и пикрофуксином по методу ван Гизон. Всего была сделана 31 операция на сердце. В 8 случаях кролики погибли во время операции от фибрилляции сердца, шока или пневмоторакса, или в первые 1—2 дня после операции, ночью, и не были гистологически обработаны. Оставшиеся 23 кролика распределялись по сериям опытов. 1) Три составили контроль — имплантация в миокард кусочка батиста. Животных забивали через 7, 11 и 18 дней после операции. 2) Одиннадцать были с аутотрансплантацией кусочков скелетных мышц в миокард. Забой — в сроки через 3, 5, 6, 7, 9, 11, 15 и 22 дня после операции. 3) У семи была проведена гомотрансплантация шприцем кусочков скелетных мышц самки в миокард самцам. Забой — через 11, 13, 14, 22 и 24 дня после операции. 4) Два кролика имели гомотрансплантацию кусочков сердечной мышцы в миокард. Забой через 8 и 14 дней после операции.

Результаты. В контроле при имплантации в миокард кусочка батиста в области раны происходило развитие грануляций и рубца, что неоднократно описывалось (1, 9, 10). Особенностью этого эксперимента было образование многоядерных гигантских клеток в непосредственной близости к волокнам батиста. В ряде случаев эти клетки имели вид недифференцированных мышечных волокон. Ядра их были удлиненные и плотные, а протоплазма окрашивалась пикрофуксином в желтый цвет, как у мышц, и не имела миофибрилл и поперечной исчерченности. Эти клетки появлялись через 8 и 14 и дегенерировали через 18 дней после операции.

Куски скелетных и сердечных мышц после 48-часовой обработки в трипановом синем морфологически были некротизированы. Они были набухшие, мутные, распадались на куски, гомогенно окрашивались, попереч-

* Этот краситель нам любезно предоставил Г. Левандер, за что выражаем ему нашу искреннюю благодарность. Ткани, обработанные в красителе этого типа, после имплантации вызывают наилучший результат новообразования тканей (8).

Рис. 1. Новообразование мышечных элементов в миокарде кроликов при аутотрансплантации кусочков скелетных мышц. Об. 40×, ок. 10×. *а* — толстые некротизированные волокна трансплантата и тонкие некротизированные мышечные волокна сердца реципиента; 3 дня после операции. *б* — новообразованные цепочки миофибрилл рядом с некротизированными мышечными волокнами трансплантата; 5 дней после операции. *в* — группа новообразованных клеток типа кардиомиоцитов; 7 дней после операции. *а, в* — окраска по ван Гизон; *б* — окраска гематоксилин-эозином

Рис. 2. Новообразование островков мышц сердечного или гибридного, сердечно-скелетного типа вблизи имплантата мышц, вдали от мышц краевой зоны. Об. 40×, ок. 10×. *а* — 9 дней после операции. Гематоксилин-эозин. *б* — 22 дня после операции. Окраска по ван Гизон

Рис. 3. Новообразованные мышечные волокна, окруженные рубцовой соединительной тканью, в центре очага повреждения рядом с некротизированным трансплантатом мышц. *а* — окраска гематоксилин-эозином, об. 8×, ок. 10×; *б* — окраска по ван Гизон, об. 40×, ок. 10×; *а, б* — 22 дня после операции. *в* — ядро мышечного волокна сердца с половым хроматином на полюсе (стрелка). 5 дней после операции. Окраска по ван Гизон. Об. 90×, ок. 10×

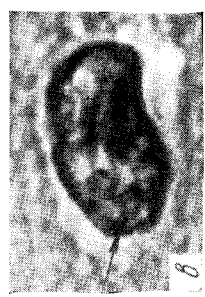
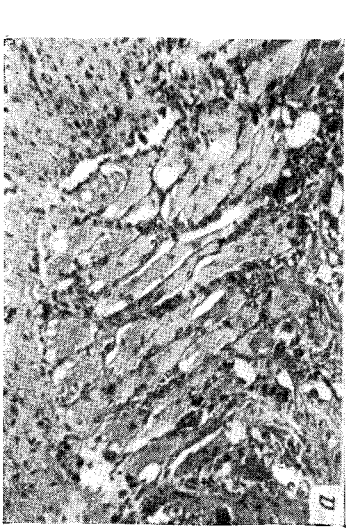


Рис. 1



Рис. 2

Рис. 3

ная исчерченность в них либо исчезала, либо становилась очень грубой, ядра также исчезали, оставшиеся были пикнотичными. Никаких признаков восстановления трансплатированных мышц не было ни в один срок наблюдения. Они инвазировались лейкоцитами, в них возникали большие скопления отечной жидкости и эритроцитов и они фагоцитировались макрофагами. Мышечные волокна сердца, окружающие трансплантат, некротизировались (рис. 1а). Через 5—7 дней после операции среди клеток незрелой соединительной ткани грапуляций, окружающих трансплантат, и клеток крови, рядом с некротизированными мышцами имплантата появлялись удлинненные клетки с молодыми пузырьковидными ядрами с крупными ядрышками — миобласты. Они соединялись, образуя цепочки или миосимпласты (рис. 1б). Далее, через 7—9—11 дней после операции из них возникали многоядерные мышечные тяжи, в которых ядра располагались в виде цепочек, а в цитоплазме появлялись миофибриллы, как у скелетных мышц, либо образовывались отдельные толстые клетки с одним крупным ядром в каждой клетке, как в сердечных миоцитах (рис. 1в). Позднее, через 9 дней после операции такие кардиомиоцитоподобные клетки, сливаясь, образуют миосинцитий, в котором в ряде случаев достаточно ясно видны границы клеток, разделенные полосками, напоминающими вставочные пластинки, и с ядрами, лежащими поодиночке, попарно или группами в центре тела клетки, как в миокарде (рис. 2). Через 22 дня такие мышцы располагаются группами, главным образом в тех местах, где нет плотной соединительной ткани, в местах разрежения ее, в некоторых случаях в виде больших островков среди окружающей их рубцовой соединительной ткани, вдали от культей мышц краевой зоны миокарда (рис. 3а). По строению, форме и окраске они сильно отличаются от мышц сердца реципиента. В ряде мест они очень напоминают скелетные мышцы (рис. 3б). В большинстве случаев они скорее гибридного, сердечно-скелетного типа. В них хорошо развита миофибриллярность и иногда видна поперечная исчерченность.

При гомотрансплантации прокрашенной некротизированной скелетной мышцы в миокард результат получился подобный тому, что был при ауто-трансплантации мышц. Отличие состояло в несколько более медленном темпе новообразования мышц и в меньшем их объеме. Однако последнее, вероятно, обусловлено тем, что в этом опыте имплантат был меньшего объема, чем в опыте с ауто-трансплантацией, поскольку его вводили через толстую иглу шприца в узкий карман в миокарде. Мышечные ядра и глыбки хроматина, в частности полового, отчетливо видны (рис. 3в). Подсчет ядер с половым хроматином показал, что новообразованные мышечные волокна принадлежат реципиентам. В них, как и в мышечных ядрах сердца реципиента-самца, имеется 1—4% ядер с половым хроматином, а в мышечных ядрах донора-самки 51—55%. Ядра в новообразованных мышечных волокнах часто лежат попарно, группами или в виде цепочек, но митозов среди них не видно. Может быть, это обстоятельство указывает на то, что миобласты образуются без деления клеток, из уже имеющихся миогенных или немиеогенных клеток.

В двух случаях гомотрансплантации прокрашенных некротизированных кусочков миокарда в миокард имела место сильная лейкоцитарная и лимфоидно-плазматическая реакция и мышечные волокна рядом с быстро распадающимися тканями трансплантата не возникали.

Обсуждение. При ранениях миокарда в очагах повреждения возникают только рубцы⁽¹⁰⁾, как и при введении в него стальных или целлоидиновых игл^(1, 9). При имплантации в миокард кусочков батиста раны рубцуются, но рядом с имплантатом возникают, по-видимому из полибластов, многоядерные гигантские клетки инородных тел. Иногда они морфологически сходны с недифференцированными мышечными волокнами, через 18 дней после операции дегенерируют и распадаются. При ауто- и гомотрансплантации прокрашенных трипановым синим некротизирован-

ных скелетных мышц в миокарде кроликов новообразуются дифференцированные мышечные волокна сердечного, скелетного и гибридного, скелетно-сердечного типа, вдали от культей мышц миокарда реципиента и вблизи имплантата. Они возникают из клеток реципиента, а не донора, на что указывают данные об их местоположении, особенностях строения и о половом хроматине. Поэтому можно полагать, что эти новообразованные мышцы следует рассматривать как индукцию, а не регенерацию. Полученные результаты сходны с данными по индукции скелетных мышц в сальнике и под кожей у кроликов (3-5, 8), причем методом автордиографии с применением ³H-тимидина было показано, что мышцы возникают из клеток реципиента, а не донора (6). Полученные данные сходны также с данными по индукции скелетных мышц бесклеточными гомогенатами, приготовленными из скелетных мышц цыпленка (11) и с данными по индукции сердечных мышц микросомной фракцией сердечной мышцы вместе с вирусом саркомы Ру в хориоаллантоисе куриных эмбрионов (7). Конкретные клеточные источники новообразующихся скелетных мышц в предлагаемых экспериментах не установлены. Они могут иметь миогенное происхождение — возникать из миогенных элементов, находящихся в гранулятиях миокарда и не способных без дополнительного воздействия вторично дифференцироваться в мышечные волокна. Или они могут возникать из каких-то немиеогенных, плюрипотентных клеток под индуцирующим тканеспецифическим влиянием трансплантатов и продуктов распада, образующихся в очаге повреждения миокарда. Этот вопрос требует дальнейшего экспериментального исследования.

Как мы полагаем, полученные данные имеют принципиальное значение, показывая явление регенерации путем индукции в миокарде у взрослых млекопитающих, неспособных к регенерации мышцы сердца при обычных условиях повреждения.

Институт биологии развития
Академии наук СССР
Москва

Поступило
2 X 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. Н. Аничков, О воспалительных изменениях миокарда. Дисс., СПб, 1912.
- ² Г. П. Горохова, Изучение полового хроматина в некоторых тканях в норме и при регенерации кости, М., Канд. дисс., 1971. ³ Л. В. Полежаев, ДАН, т. 145, 681 (1962).
- ⁴ Л. В. Полежаев, В кн.: Метоплазия тканей, «Наука», 1970, стр. 45. ⁵ Л. В. Полежаев, В кн.: Механизмы регенерации и клеточного деления, «Наука», 1971, стр. 121.
- ⁶ Л. В. Полежаев, ДАН, т. 213, № 1 (1973). ⁷ J. D. Ebert, J. Exp. Zool., v. 142, 587 (1959). ⁸ G. Levander, Phenomena Induction of Tissue Regeneration, Stockholm, 1964.
- ⁹ W. Oppel, Virchows Arch., v. 164, 406 (1901). ¹⁰ L. V. Polezhaev, Organ Regeneration in Animals, 1972. ¹¹ F. F. Van Haeften, Acta Physiol. Pharmacol. Neerlandica, v. 7, 1 (1958).