

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РСФСР  
СВЕРДЛОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи

Ангелина Петровна АГЕНОСОВА

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ И ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ  
ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЕЧЕНИ  
НЕКОТОРЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ  
В РАЗНОЕ ВРЕМЯ СУТОК  
В УСЛОВИЯХ ТРЕНИРОВКИ,  
УТОМЛЕНИЯ И ВЛИЯНИЯ СТИМУЛЯТОРА

(14.00.23—гистология)

А в т о р е ф е р а т  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Свердловск, 1974

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РСФСР  
СВЕРДЛОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

На правах рукописи

Ангелина Петровна АГЕНССОВА

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ И ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ  
ХАРАКТЕРИСТИКИ ПЕЧЕНИ  
НЕКОТОРЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ  
В РАЗНОЕ ВРЕМЯ СУТОК  
В УСЛОВИЯХ ТРЕНИРОВКИ,  
УТОМЛЕНИЯ И ВЛИЯНИЯ СТИМУЛЯТОРА

(14.00.23—гистология)

А в т о р е ф е р а т  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Свердловск, 1974

Работа выполнена на кафедре биологии с общей генетикой Тюменского государственного медицинского института.

Научный руководитель—доктор медицинских наук, профессор Г. Д. Губин.

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор **А. И. Бухонова**,  
кандидат медицинских наук, доцент **Е. С. Беликов**.

Научное учреждение, давшее отзыв о работе—2-ой Московский государственный медицинский институт.

Автореферат разослан *2 октября* 1974 г.

Защита диссертации состоится *12 ноября* 1974 г.  
на заседании Ученого Совета Свердловского государственного  
медицинского института (г. Свердловск, ул. Репина, 3).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке СГМИ (г. Свердловск, ул. Ермакова, 17).

Ученый секретарь Совета,  
доцент **В. Г. Константинов**.

Проблемам биоритмологии в последнее время уделяют все большее внимание в различных разделах биологических и медицинских наук (М. Е. Лобашев и В. Б. Савватеев, 1959; А. М. Эмме, 1962, 1967; В. Н. Доброхотов с соавт., 1964, 1972; A. Sollberger, 1965; Ф. И. Комаров с соавт., 1966; В. П. Михайлов, 1966; И. А. Агаджанян, 1967; Ю. А. Романов, 1970; H. Mayersbach, 1970; T. Aschoff, 1970; и др.).

Познание биологических часов дает в руки человека могучее орудие воздействия на живые организмы. Сейчас уже трудно представить всестороннее изучение живых организмов в отрыве от биоритмологии.

Исследование биологических часов имеет первостепенное значение для физиологии труда, физиологии спорта, курортологии, теоретической и клинической медицины, для решения многих вопросов космической биологии и медицины (А. Д. Слоним, 1945, 1964, 1971; Е. Л. Склярчик, 1954, 1963; F. Halberg, 1960, 1964, 1971; Э. Бюннинг, 1961, 1964; С. О. Руттеберг, 1964, 1966; В. Н. Доброхотов с соавт., 1964, 1972; Z. Drozdowski с соавт., 1967; В. С. Алякринский, 1967, 1971; А. А. Леонов и В. И. Лебедев, 1968; В. Г. Вогралик, 1970; В. В. Парин с соавт., 1971; А. Н. Лицов, 1971; Г. Д. Губин, 1971; S. Wąganski с соавт., 1972; и др.).

По мнению ряда исследователей (Э. Бюннинг, 1961, 1964; А. М. Эмме, 1962, 1967; К. Питтендрай, 1964; и др.) механизм отсчета времени, так называемые «биологические часы», локализуется в клетке. Ритмы биологических процессов на клеточном уровне интегрируются в ритмы тканевые, а они, синхронизируясь между собой и с геофизическими ритмами, создают специфический организменный ритм со своеобразием периодов, амплитуд, фаз тех или иных биологических процессов (F. Halberg, 1964).

Медицинский аспект проблемы биологических ритмов наиболее успешно исследуется физиологами (Ф. И. Комаров,

П. В. Захаров, В. А. Лисовский, 1966; Б. С. Алякринский, 1967, 1971; В. Г. Вопралнк, 1970; и др.). На клеточном уровне всесторонне исследована суточная ритмичность митозов в различных тканях млекопитающих (И. А. Алов, 1959, 1960, 1962, 1964; В. Н. Доброхотов с соавт., 1959, 1962, 1964, 1972, 1973; Л. Д. Лнознер, В. Ф. Сидорова, 1959; Н. В. Красильникова, 1962, 1963; Л. В. Соколова, 1964, 1969; Н. В. Булгак, 1969, 1970; Ю. А. Романов, 1970; и др.). В последнее время ряд ученых (В. Н. Доброхотов с соавт., 1964, 1972; F. Halberg, 1964, 1971; Г. Д. Губин, 1968, 1971; С. Jerusalem et al, 1970; М. Г. Колпаков с соавт., 1972; и др.) поднимают вопрос о зависимости реакции клетки, органов и организма в целом на стимулирующие и повреждающие факторы внешней среды от времени суток, в которое вводился тот или иной агент. Не изучен вопрос о направленности обмена веществ и его уровне в клетках в период последействия на организм тем или иным фармакологическим веществом в разное время суток.

Печень издавна служила классическим объектом для изучения ряда закономерностей в гистологии, цитологии, патоморфологии и биоритмологии. Хорошо известна важная роль печени в организме. Печень участвует в процессе пищеварения, многообразных сторонах обмена (углеводном, белковом, жировом, холестерина, витаминов), выполняет обезвреживающую функцию токсических продуктов, обладает возможностью осуществлять общие защитные реакции и т. д. (А. Фишер, 1961; В. М. Бреслер с соавт., 1969; Е. Ф. Котовский, Л. Л. Шимкевич, 1971; Е. Ф. Котовский, 1972; и др.).

В настоящее время выполнено много биохимических исследований, в которых глубоко и всесторонне изучен вопрос влияния физических нагрузок на метаболизм печени (Н. Н. Яковлев, 1941, 1970; Н. Н. Яковлев и Л. И. Ямпольская, 1947; Л. Г. Лешкевич, 1964; Ю. И. Родионов, 1967; и др.). Однако мы не встретили исследований характера суточной динамики внутриклеточного метаболизма гепатоцитов животных, находящихся в условиях различных физических нагрузок.

Изучение суточных ритмов на клеточном уровне у животных при различных физических нагрузках несомненно представляет большой теоретический и практический интерес. Являясь конечным пунктом адаптационных реакций, клетки не только отражают уровень общей сопротивляемости организма, но и обеспечивают его (М. А. Розин, 1967). Исследование показателей внутриклеточного метаболизма в суточном физиологическом ритме у организмов в различных физиологических

состояниях расширит познание адаптивно-приспособительных возможностей клетки и организма, пластического обеспечения функций, трофики клетки. Знание диапазонов суточных колебаний показателей гомеостаза в клетках может быть полезным в определении нормы реакции и ее патологии. Цитохимические изменения после воздействия фармакологических веществ в период их последствия в разное время суток представляют интерес для цитофармакологии.

Целью наших исследований было изучение суточного ритма внутриклеточных показателей метаболизма гепатоцитов животных, находящихся в различных условиях физической нагрузки (тренировка, утомление) и после введения стимулирующих доз фенамина. В связи с этим были определены следующие задачи:

1) изучить физиологическую активность подопытных животных в течение суток с помощью теста работоспособности;

2) проанализировать характер влияния стимулирующих доз фенамина на продолжительность плавания животных в разное время суток;

3) определить характер цитологических и цитохимических сдвигов внутриклеточных показателей метаболизма гепатоцитов при введении в организм стимулирующих доз фенамина в разное время суток;

4) охарактеризовать особенности внутриклеточного метаболизма клеток печени, находящихся в условиях различных физических нагрузок (физиологическая нагрузка, вызывающая тренированность организма, и большие, длительные физические нагрузки, вызывающие развитие утомления) в разное время суток.

### Материал и методы исследования

В соответствии с поставленными задачами проведено три серии опытов на беспородных половозрелых белых мышах, крысах самцах и чистопородных половозрелых самцах и самках линии «Balb» в зимне-весенний период. Животные содержались в помещении с доступом солнечного света и колебаниями температуры и влажности в пределах, обычных для жилых комнат, и имели свободный доступ к пище и питьевой воде.

В первой серии опытов изучался суточный ритм физиологической активности подопытных животных (мышей). Тестом

физиологической активности была работоспособность подопытных животных в течение суток, которую определяли посредством плавания в воде по методу И. И. Брехмана с соавт. (1963). Эксперимент проведен на 170 животных со средним весом 25—27 грамм в разное время суток (3, 10, 15, 21 час).

Во второй серии опытов изучался характер влияния стимулирующих доз фенамина (0,5 мг/кг) на работоспособность организма и цитохимические показатели метаболизма гепатоцитов в разное время суток. Эксперименты на работоспособность животных при влиянии стимулирующих доз фенамина проведены на 400 белых мышках-самцах, средний вес—19—21 г.

В третьей серии опытов проведено изучение суточной периодичности комплекса цитологических и цитохимических показателей метаболизма в течение суток у животных, находящихся в условиях физиологической нагрузки, приводящей организм к тренированности, и в условиях длительных максимальных нагрузок, вызывающих в организме состояние утомления. За критерий тренированности и развивающегося хронического утомления брались морфо-физиологический тест — вес животного (Н. Н. Яковлев, 1955; В. Смодлака, 1958; Н. Цанева, Н. Стоянова, 1968; З. П. Лангазо, 1969; Л. Б. Сухинина, 1971; К. П. Рябов, 1972; и др.) и физиологическая активность в течение суток (М. Р. Мейзелис, 1953, 1958; А. Д. Слоним, 1963). Животных забивали декапитацией на следующий день после завершения цикла тренировок и утомления в 3, 5, 9, 11, 15, 17, 21 и 23 часа. Ткань фиксировали в жидкости Карнуа или в фиксаторе В. Я. Бродского (1966) и 10%-формалине.

Нуклеиновые кислоты (ДНК, РНК) выявлялись галлоцианином по Эйнарсону (Э. Пирс, 1962), РНК—по методу Браше с применением метилового зеленого и пиронина, приготовленного по прописи Унна-Папенгейма. Контрольные срезы обрабатывались раствором кристаллической рибонуклеазы. «Суммарные» белки определяли с помощью тетраэтилизированного бензидина (Э. Пирс, 1962), а гликоген—ШИК-реакцией с обработкой контрольных срезов амилазой слюны. Липиды исследовали в срезах печени после окраски суданом IV и суданом черным по модификации В. Ромейса (Р. Лилли, 1969), активность СДГ—методом М. Nachlos a. oth. (1957). Количественное определение содержания гликогена и РНК в гепатоцитах животных проведено цитоспектрофотометрированием на

МУФ-5\* (Л. П. Овчинникова, Т. В. Селиванова, 1964; В. М. Бреслер, 1969; В. Зандриттер с соавт., 1969; и др.).

В работе изучены ядерно-цитоплазменные отношения в клетках печени мышей и крыс в суточном физиологическом ритме у животных, находящихся в различных физиологических состояниях (тренировка, утомление, действие стимулятора—фенамина), по методике, принятой в лаборатории С. И. Щелкунова (1962). Кариометрические изменения ядер гепатоцитов проведены по методике, описанной в монографии Я. Е. Хесина (1967). Объем ядер определяли по формуле эллипсоида вращения  $V = \frac{\pi}{6} L^2 B$ , где L—поперечник ядра длин-

ный, B—поперечник короткий, измеряемые окуляр-микрометром. Определение объема ядрышек проведено по формуле шара  $\frac{4}{3} \pi r^3$  (Я. Е. Хесин, 1967). Площадь цитоплазмы и размер

клеток определены на основании данных объемов ядер и ядерно-цитоплазменных отношений. Все подсчеты произведены с масляным иммерсионным объективом 90 $\times$  и окуляром 15 $\times$  бинокулярной насадки в препаратах, окрашенных по Браше, после фиксации по Карнуа. На препаратах, окрашенных гематоксилин-эозинном, подсчитано количество двуядерных клеток на одну тысячу клеток для каждого животного.

Микроскопические препараты изучены с помощью микроскопа МБР-1. Рисунки с препаратов сделаны на уровне стола с помощью рисовального аппарата РД-4. Микрофотографии выполнены на МБИ-6.

Во всех необходимых случаях материал обработан методом вариационной статистики по Фишер-Стьюденту (И. О. Ойвин, 1960). Достоверность сдвигов в размерах ядер определялась также по критерию согласия ( $\chi^2$ ), который позволяет улавливать изменения не только средних размеров объемов ядер, но и степень соответствия конфигураций сравниваемых вариационных кривых (О. Bucher, 1959; Я. Е. Хесин, 1967; Г. Д. Губин, 1971).

---

\*) МУФ-07002 в лаборатории цитоспектрофотометрии морфологического отдела ЦНИЛ Ленинградского санитарно-гигиенического медицинского института.

Пользуясь случаем, приношу признательность старшему научному сотруднику лаборатории, канд. биол. наук Н. А. Шляхтер за помощь в работе.



## Результаты исследований и их обсуждение

### Особенности цито- и карิโอметрии клеток эпителия печени интактных и опытных животных в разные часы суток.

Размер клеток печени контрольных и опытных животных закономерно и ритмично изменяется в течение суток: в первой половине суток (3, 5, 9, 11 часов) размеры клеток—наибольшие, а во второй половине суток (15, 17, 21, 23 часа)—наименьшие (табл. 1, 2, 3). Максимальные размеры гепатоцитов (акрофаза) отмечаются обычно в 3 часа ночи, а минимальные размеры — в 21 час. Однако суточная амплитуда колебаний размеров клеток печени в проведенных сериях экспериментов существенно различается. Если в контроле размах суточных колебаний (амплитуда) размеров гепатоцитов равняется 56%, то у тренированных животных она возрастает до 77%. Амплитуда колебаний размеров клеток печени в течение суток у животных, стимулированных фенамином и утомленных, снижается до 6 и 25%. Из таблицы 3 следует, что если в первой и во второй половинах суток размеры клеток печени тренированных животных по сравнению с контролем отличаются незначительно (5—7%), то размеры клеток печени утомленных животных и подвергнутых инъекциям фенамина характеризуются значительными различиями, особенно в первой половине суток. Уменьшение размеров клеток печени после введения фенамина в стимулирующих дозах в первой половине суток составляет 25%, а в серии утомленных животных—28%. Во второй половине суток (21 и 23 часа) размеры клеток печени животных после воздействия фенамина уменьшаются на 12%, в серии утомленных животных—на 9%. Данные о суточной ритмичности размеров гепатоцитов с акрофазой в ночное время согласуются с данными Г. Д. Губина, полученными при изучении суточного ритма клеток печени у интактных и голодных мышей и крыс.

Максимальные ядерно-цитоплазменные отношения гепатоцитов экспериментальных и контрольных мышей и крыс отмечаются во второй половине суток (15, 17, 21, 23 часа), а минимальные—в первой половине суток (3 и 5 часов). Диапазон суточных колебаний ядерно-цитоплазменных отношений гепатоцитов контрольных животных составляет 21%, тренированных—29%, а в сериях при воздействии фенамина и при утомлении он уменьшается до 4—6%. Наши данные о максимальной ядерно-цитоплазменных отношениях гепатоцитов интактных мышей и крыс во второй половине суток согласуются с данными Л. В. Соколовой (1964) и Г. Д. Губина (1971).

Таблица 3.

Сравнительная характеристика отклонений цитологических  
и цитохимических показателей гепатоцитов опытных мышей  
от контроля в первой и второй половинах суток  
и суточная амплитуда этих показателей  
(в % или в условных обозначениях)

Период суток	Т	Ф	У	Суточная амплитуда в %			
				К	Т	Ф	У

### 1. Размер клеток

Первая половина суток	+ 5	-25	-28	56	77	6	25
Вторая половина суток	- 7	-12	- 9				

### 2. Ядерно-цитоплазменные отношения

Первая половина суток	+ 1	+21,7	+21	21	29	4,5	6
Вторая половина суток	- 5	+12,5	+ 9				

### 3. Средний объем ядер

Первая половина суток	+20	- 5,7	-34,7	43	88	15,0	24
Вторая половина суток	- 7	0	-24,5				

Период суток	Т	Ф	У	Суточная амплитуда в %			
				К	Т	Ф	У
<b>4. % полиплоидных клеток</b>							
Первая половина суток	+11	- 7,6	-34,3	37	57	20,5	28
Вторая половина суток	- 3	- 9,5	-29,1				
<b>5. % двуядерных клеток</b>							
Первая половина суток	+ 8	+57	+12	12	21	7	6
Вторая половина суток	+18	+14,2	- 3,7				
<b>6. Суммарный объем ядрышек в ядре</b>							
Первая половина суток	+ 5	- 0,6	-30,3	30	42	2	11
Вторая половина суток	- 3	+ 6,5	-19,5				
<b>7. Содержание РНК (по данным цитоспектрофотометрии)</b>							
Первая половина суток	+ 9,5	+13	-16,7	23,7	15	3	13
Вторая половина суток	- 0,8	+ 1,5	26,8				

### 8. Реакция на «суммарный» белок

Первая половина суток	+	++	—	есть четкая	есть четкая	Во все часы значительная	ослабленная
Вторая половина суток	=	=	---				

### 9. Содержание гликогена (по данным цитоспектрофотометрии)

Первая половина суток	+ 2	-57	-82	189	180	43	10
Вторая половина суток	+ 6	- 9	-52				

### 10. Содержание нейтральных жиров

Первая половина суток	=	++	++	есть четкая	есть четкая	выражена слабо	
Вторая половина суток	=	+	++				

К—контроль, Т—тренировка, Ф—после инъекций фенамина,  
У—утомление.

= показатель соответствия контролю в данное время,

— реакция слабо снижена по сравнению с контролем,

--- реакция существенно снижена по сравнению с контролем,

+ заметное усиление реакции по сравнению с контролем,

++ существенное усиление реакции по сравнению с контролем.

Максимальные средние объемы ядер гепатоцитов интактных и опытных животных отмечаются в утренние часы (3, 5, 9, 11 часов), а минимальные средние объемы—в вечернее время (15, 17, 21, 23 часа). Размах колебаний средних объемов ядер в течение суток у интактных мышей равен 43%, у тренированных—88%, а у мышей после инъекций стимулирующих доз фенамина и при утомлении он сокращается до 15—24%. В серии тренированных животных по сравнению с контролем увеличение средних объемов в первой половине суток составляет 20%, а во второй половине суток, наоборот, средние объемы ядер уменьшаются на 7%. В серии животных после введения стимулирующих доз фенамина изменения средних объемов ядер незначительные, а в серии утомленных мышей они очень существенные, особенно в первой половине суток (34,3%). Наши данные о максимальных средних объемах ядер гепатоцитов крыс и мышей в ночные и утренние часы согласуются с данными Т. Caspersson, а Н. Holmgren (1934); Р. Suppan (1966); З. А. Рябининой (1968); С. Ierusalem et al (1970); Г. Д. Губина (1971). При изучении данных о флюктуации средних объемов ядер в гепатоцитах интактных и опытных мышей и крыс мы исходили из двух важных моментов в их изменении, которые описаны в литературе. Во-первых, изменение размеров ядер гепатоцитов может быть обусловлено истинной функциональной флюктуацией объемов ядер или в сторону набухания или сморщивания (В. Я. Бродский, 1966; Я. Е. Хесин, 1967; и др.). Во-вторых, изменение средних размеров гепатоцитов может произойти в связи с изменением соотношения ди- и полиплоидных клеток печени (В. Я. Бродский, 1965, 1966; Р. Suppan, 1966; В. А. Бенюш, 1967, 1969; З. А. Рябина, 1968; З. А. Рябина и В. А. Бенюш, 1973). В настоящее время суточные колебания объемов ядер гепатоцитов и характер изменения полиплоидных клеток в печени млекопитающих в течение суток изучены недостаточно.

Существование определенной корреляции между содержанием ДНК и объемом ядер печени (Fraser Davidson, 1953; В. Я. Бродский, 1966; З. А. Рябина, 1968; В. А. Бенюш, 1967, 1969; З. А. Рябина и В. А. Бенюш, 1973) дает возможность определять плоидность ядер печени на основании данных карิโอметрических вычислений объемов их.

Вариационные кривые объемов ядер, полученные на основании разбивки объемов ядер на классы, выраженные в логарифмах, в разное время суток у тренированных, контрольных и утомленных мышей и крыс, а также у мышей после введения

стимулирующих доз фенамина в разное время суток, позволили выявить характер перераспределения ди- и полиплоидных ядер, а также результат функционального сморщивания или набухания. Сдвиг вариационных кривых объемов ядер на 0,3 lg расценивался как кратное увеличение ядер, явление полиплоидии (Г. Д. Губин, 1971; С. Е. Ли и О. И. Кириллов, 1972). Изменение меньше, чем на 0,3 lg, расценивалось как результат функционального сморщивания или набухания ядер без кратного изменения содержания ДНК. Определение критерия согласия ( $\chi^2$ ) позволило судить о достоверности изменения профиля вариационных кривых объемов ядер.

В проведенных экспериментах наибольший процент как полиплоидных ядер, так и средних объемов ядер гепатоцитов отмечается в утренние часы (3, 5, 9, 11), наименьшее количество—в вечернее время (15, 17, 21, 23 часа). Диапазон суточных колебаний полиплоидных ядер составляет у интактных мышей 37%, у тренированных—57%, а в сериях при воздействии стимулирующих доз фенамина и при утомлении—20,5—28%. Наибольшее уменьшение процента полиплоидных ядер в гепатоцитах отмечается у утомленных животных, особенно в первой половине суток, где процент уменьшения полиплоидных ядер по сравнению с контролем составляет 34,3%. Наши данные о суточных колебаниях количества полиплоидных клеток печени интактных мышей и крыс согласуются с данными ряда исследователей (P. Suprap, 1966; O. Bucher, 1966; C. Jerusalem et al, 1970; Г. Д. Губин, 1971).

Акрофаза количества двуядерных клеток печени отмечается во второй половине суток (21 час), когда количество полиплоидных клеток статистически достоверно ( $P < 0,001$ ) снижается по сравнению с первой половиной суток. В первой половине суток, когда количество полиплоидных ядер возрастает, количество двуядерных клеток, наоборот, уменьшается (табл. 1, 2). Суточная амплитуда ритмичности данного показателя наиболее выражена у тренированных животных и составляет 21%. В сериях при инъекции стимулирующих доз фенамина и при утомлении суточная амплитуда ритмичности количества двуядерных клеток уменьшается до 6—7% (табл. 3). Наибольшее увеличение количества двуядерных клеток отмечается у мышей в серии при воздействии стимулирующих доз фенамина, особенно в первой половине суток (57%). У утомленных мышей увеличение количества двуядерных клеток также более значительно в первой половине суток (12%). Данные ряда исследователей (Т. А. Залетаева, 1963; С. С. Лагушев,

1963; O. Bucher, 1966; P. Suppan, 1966; Г. Д. Губин, 1971; и др.) и наши данные позволяют считать ритмичность количества двуядерных клеток в течение суток важным ежесуточным фактором физиологической регенерации печеночной ткани. Аналогичные изменения всех изученных показателей (размер клеток, ядерно-цитоплазменные отношения, средние объемы ядер, количество полиплоидных и двуядерных клеток) отмечаются в гепатоцитах интактных и опытных крыс в разное время суток (табл. 2).

Суточная динамика ряда цитологических показателей метаболизма гепатоцитов сопровождается изменением цитохимических показателей внутриклеточного обмена веществ.

В гепатоцитах интактных и опытных мышей и крыс максимальное содержание РНК отмечается во второй половине суток (15, 21, 23 часа), минимальное—в утренние часы (3, 5, 9 часов). Суточная амплитуда ритмичности содержания РНК в гепатоцитах интактных мышей составит 23,7%, у тренированных 15%, а в сериях после воздействия стимулирующих доз фенамина и при утомлении 3—13% (табл. 3). В гепатоцитах тренированных животных по сравнению с контролем увеличение содержания РНК в первой половине суток составляет 9,5%, в серии с воздействием стимулирующих доз фенамина в этот период времени—13%, а в серии утомленных мышей содержание РНК в первой половине уменьшилось на 16,7% по сравнению с контролем, а во второй половине суток оно достигло 26,8%. Во второй половине суток, когда содержание РНК у интактных животных максимально, уменьшение его в гепатоцитах утомленных животных в данные часы более заметно. Наши данные о суточной ритмичности реакции на РНК с акрофазой ее во второй половине суток совпадают с данными Г. Д. Губина (1964, 1968, 1971).

В синтезе РНК большое значение имеют ядрышки, количество РНК в которых легко изменяется в зависимости от функционального состояния (Т. Caspersson, 1950; Ж. Браше, 1960, 1961; и др.). В наших исследованиях наибольший суммарный объем ядрышек отмечается в утренние часы (3, 5, 9, 11 часов), когда содержание РНК в цитоплазме минимальное; наименьший суммарный объем ядрышек в ядрах гепатоцитов отмечается в вечернее время, когда в цитоплазме гепатоцитов значительно ( $P < 0,001$ ) увеличивается содержание РНК. Суточная амплитуда колебаний суммарного объема ядрышек у контрольных мышей равна 30%, у тренированных она увеличивается до 42%, в сериях мышей, подвергнутых стимулирующим

дозам фенамина и утомлению, суточная амплитуда сокращается до 2—11%. Если в сериях тренированных животных и при введении стимулирующих доз фенамина по сравнению с контролем изменение суммарного объема ядрышек невелико (0,6—6,5%), то в серии утомленных мышей уменьшение суммарного объема ядрышек в первой половине суток составляет 30%, а во второй—19,5%.

Б. В. Кедровский, 1937; Т. Caspersson, 1940; Ж. Браше, 1957; и др. в своих исследованиях отмечают прямую зависимость между синтезом белка и содержанием РНК. Динамика реакции на «суммарные» белки и по интенсивности, и по цитотопографии в цитоплазме клеток печени мышей и крыс во всех наших опытах соответствует динамике реакции на РНК. Усиление реакции на «суммарные» белки наблюдалось во второй половине суток (15, 17, 21, 23 часа), когда значительно возросла реакция на РНК. Слабая реакция на «суммарные» белки характерна для первой половины суток. В гепатоцитах тренированных животных четкая ритмичность реакции на «суммарные» белки в течение суток сохраняется. В серии с введением фенамина реакция на «суммарные» белки усиливается во все часы суток по сравнению с контролем, особенно яркое усиление отмечается в первой половине суток. В серии утомленных животных реакция на «суммарные» белки во все часы суток значительно ослабевает. Наши данные аналогичны исследованиям Г. Д. Губина (1964, 1971), в которых описан суточный ритм реакций на «суммарные» белки у интактных мышей и крыс с максимумом их во второй половине суток, когда отмечается усиление реакции на РНК.

Усиление реакции на РНК, по нашим исследованиям, всегда связано с заметным расходом гликогена. Максимальное количество гликогена в гепатоцитах чаще всего наблюдается в ночные и утренние часы (3, 5, 9), т. е. в фазу покоя животных, минимальное—в 15, 21 час. Суточная амплитуда ритмичности содержания гликогена в контроле составляет 189% (табл. 3), у тренированных животных—180%, а в сериях при введении стимулирующих доз фенамина она сокращается до 43%, у утомленных животных до 10%. У тренированных животных степень увеличения гликогена в течение суток по сравнению с контролем очень незначительная (2—6%). В серии с введением фенамина наибольшее уменьшение содержания гликогена в гепатоцитах отмечается в первой половине суток (57%), когда исходный уровень его в клетках контрольных животных велик. Наиболее яркое уменьшение содержания гликогена в ге-



патоцитах наблюдается у утомленных животных, когда уменьшение его по цитоспектрофотометрическим данным составило 82% в первой половине суток и 52% во второй половине суток при сравнении с контролем. Наши данные о максимальном количестве гликогена в ночные и утренние часы в клетках печени интактных мышей и крыс согласуются с данными ряда авторов (E. Forsgren, 1928, 1929, 1930, 1931; G. Agren, 1931; H. Holmgren, 1931; Л. В. Соколова, 1969; Г. Д. Губин, 1971; и др).

Количество нейтральных жиров в гепатоцитах интактных и опытных мышей и крыс в течение суток испытывает определенный ритм. Максимальное количество нейтральных жиров отмечается во второй половине суток, минимальное — в первой. Четкая суточная ритмика количества нейтральных жиров сохраняется в гепатоцитах тренированных животных и слабо выявляется в гепатоцитах животных серий с введением стимулирующих доз фенамина и при утомлении. Наши данные об увеличении нейтральных жиров во второй половине суток согласуются с данными Н. Holmgren, 1931; Г. Д. Губина, 1971.

Наибольшая активность СДГ в гепатоцитах интактных и опытных мышей и крыс отмечается в дневные и вечерние часы (15, 21), в период функциональной активности животных, наименьшая активность характерна для первой половины суток (3, 9 часов). Существенных изменений в суточной динамике СДГ в гепатоцитах тренированных и утомленных животных не отмечалось. У животных с введением фенамина изучение активности СДГ в разное время суток не проводилось. Наши данные согласуются с данными Г. Д. Губина (1971) и Л. А. Коноваловой (1972), которые в клетках печени интактных мышей и крыс отмечали усиление тканевого дыхания с усилением активности СДГ во второй половине суток.

Таким образом, внутриклеточные показатели метаболизма в гепатоцитах интактных и опытных мышей и крыс в ночные и утренние часы характеризуются более крупными размерами клеток, минимальными ядерно-цитоплазменными отношениями, максимальными средними объемами ядер, большим процентом полиплоидных ядер и малым числом двуядерных клеток.

В это время суток в гепатоцитах опытных и интактных животных отмечается слабая реакция на РНК и «суммарный» белок, максимальный суммарный объем ядрышек в ядре (что свидетельствует об усилении синтеза РНК в ядре в данный период суток), а также максимальное количество гликогена и

наибольшее количество нейтральных жиров, слабая реакция СДГ в цитоплазме. В дневное и вечернее время в гепатоцитах интактных и опытных мышей и крыс с усилением физиологической активности животных отмечается уменьшение размеров клеток, увеличение ядерно-цитоплазматических соотношений, уменьшение средних объемов ядер и количества полиплоидных клеток, увеличение процента двуядерных клеток. В это время суток в клетках печени интактных, тренированных и подвергнутых воздействию стимулирующих доз фенамина животных отмечается усиление расхода гликогена, усиление реакции на РНК и «суммарный» белок в цитоплазме, уменьшение суммарного объема ядрышек в ядре, увеличение количества нейтрального жира и активности СДГ. В гепатоцитах утомленных животных усиление расхода гликогена не сопровождалось усилением реакции на РНК и «суммарный» белок.

Состояние и направленность обмена веществ в печени на клеточном уровне является частным отражением процессов метаболизма в организме в целом таких важных состояний жизнедеятельности как активность и покой.

Таким образом, в те часы, когда растет концентрация РНК и «суммарного» белка, усиливается расход гликогена, повышается активность СДГ, увеличивается количество нейтральных жиров, значительно уменьшаются размеры клеток печени, статистически достоверно смещаются вариационные кривые в сторону уменьшения полиплоидных и увеличения диплоидных ядер, увеличивается процент двуядерных клеток. В эти часы печень характеризуется напряженными процессами синтеза пластического материала. В этот период (15, 21 час) отмечается повышение активности животных (частые посещения кормушек, игры) и наибольшая продолжительность плавания мышей. В период покоя животных (ночные и утренние часы) в гепатоцитах мышей и крыс увеличивается количество энергетического субстрата—гликогена, ослабевает реакция на РНК и «суммарный» белок в цитоплазме, увеличивается суммарный объем ядрышек в ядре, уменьшается содержание нейтральных жиров, уменьшается активность СДГ, увеличивается размер клеток, объем ядер, увеличивается процент полиплоидных клеток и уменьшается число двуядерных. В данный период в клетках печени отмечается усиление процессов пластического синтеза в ядре. Животные в данные часы чаще всего пассивны, погружены в сон.

Сравнение изученных цитологических и цитохимических показателей метаболизма гепатоцитов тренированных живот-

ных в разное время суток и сравнение среднесуточных показателей метаболизма их (табл. 1, 2, 3) показывает, что изменения изученных показателей в гепатоцитах тренированных животных по сравнению с контрольными у интактных мышей и крыс очень незначительное. Однако в итоге это выражается в более высокой суточной амплитуде ряда цитологических и цитохимических показателей (табл. 2, 3). Увеличение амплитуды ряда цитологических показателей метаболизма в течение суток, по-видимому, можно рассматривать как один из важных признаков усиления компенсаторно-адаптивных возможностей в ответ на внешний стрессорный фактор. Развитие амплитуды суточного ритма на клеточном уровне в печени позвоночных (Г. Д. Губин, 1971) и в гепатоцитах тренированных животных, а также ритмичность ряда физиологических процессов позволяет считать суточный ритм биопроцессов признаком целесообразным, адаптивным, эволюционно приобретенным и развивающимся, имеющим большое значение в характере приспособления животных организмов к жизни на нашей планете.

Сравнение характера изменений биологических процессов в печени мышей после инъекций фенамина в разное время суток показало, что в зависимости от времени суток одни и те же стимулирующие дозы фенамина оказывают различный эффект как на уровне целостного организма, так и на клеточном уровне. На уровне целостного организма это проявляется в различном стимулирующем действии фенамина на продолжительность плавания мышей. На клеточном уровне стимулирующие дозы фенамина приводят к усилению реакции на РНК, расходу гликогена, увеличению количества нейтральных жиров, к уменьшению средних объемов ядер, к сдвигу вариационных кривых объемов ядер в сторону увеличения процента диплоидных ядер за счет уменьшения полиплоидных (табл. 1). Наиболее значительное увеличение концентрации РНК, расход гликогена, уменьшение объемов ядер, средних размеров клеток происходит в первой половине суток, когда у животных (мышей) отмечается наиболее низкий уровень внутриклеточных функций в печени, т. е. когда концентрация содержания РНК минимальная, а содержание гликогена максимальное. В это время отмечаются наиболее крупные ядра с высоким процентом полиплоидных клеток. Если же стимулятор воздействует в те часы суток (вечер), когда в гепатоцитах усиливается спонтанно реакция на РНК и происходит интенсивный расход гликогена, то эффект от стимулирующих доз

фенамина менее заметен. В это время суток различие объемов ядер гепатоцитов в печени интактных животных и после введения стимулятора-фенамина через три часа менее заметно. В это время также несущественны изменения ядерно-цитоплазменных отношений. Значительные сдвиги цитологических и цитохимических показателей метаболизма в гепатоцитах животных после инъекций фенамина, особенно в первой половине суток, по сравнению с контролем приводят к сокращению суточной амплитуды изученных внутриклеточных показателей.

Ритмичность метаболических процессов в гепатоцитах утомленных мышей и крыс в течение суток также сохраняется (табл. 2, 3), но резко сокращается размах суточных колебаний изученных цитологических и цитохимических показателей по сравнению с контролем. Сравнение среднесуточных показателей (размер клеток, увеличение ядерно-цитоплазменных отношений, уменьшение средних объемов ядер, уменьшение числа полиплоидных клеток, уменьшение среднесуточного суммарного объема ядрышек в ядре, содержание РНК и гликогена) метаболизма гепатоцитов утомленных мышей и интактных свидетельствует о значительном снижении внутриклеточных процессов обмена веществ.

Уменьшение амплитуды цитологических и цитохимических показателей метаболизма в течение суток в гепатоцитах утомленных мышей и крыс свидетельствует о серьезных нарушениях цикличности внутриклеточных процессов в печени этих животных. В клетках печени нарушается ритм образования важного энергетического субстрата — гликогена, уменьшается среднесуточный суммарный объем ядрышек в ядре, сглаживается ритм содержания РНК и «суммарного» белка, усиливается жировая инфильтрация, что, по-видимому, и приводит к состоянию десинхроноза, задержке роста животных и, если нагрузка не снимается в дальнейшем, к гибели их. Длительные и частые физические нагрузки, нарушая суточную физиологическую цикличность внутриклеточных процессов метаболизма, приводят к срыву приспособительных механизмов гепатоцитов.

Уменьшение амплитуды ритма внутриклеточных показателей метаболизма гепатоцитов животных, подвергнутых воздействию фенамина и утомлению, вызвано совершенно различными причинами. Анализ данного экспериментального материала показывает, что интерпретацию изученных цитологических показателей можно дать только интегральной оценкой цитологических и цитохимических данных.

## ВЫВОДЫ

1. В течение суток в клетках эпителия печени мышей и крыс в нормальных физиологических условиях происходят закономерные ритмичные изменения метаболизма. Амплитуда колебаний изученных показателей обмена веществ в гепатоцитах является видоспецифическим признаком.

2. Суточная ритмичность синхронно и реципрокно связанных процессов метаболизма на клеточном уровне в печени мышей и крыс находится в полном соответствии со степенью общей функциональной активности животных и с ритмом этой активности в течение суток.

3. В первой половине суток (3, 5, 9 часов), когда происходит снижение функциональной активности организма, отмечают взаимосвязанные изменения цитологических и цитохимических показателей в клетках печени, проявляющиеся в увеличении средних размеров клеток и их ядер, снижении процента диплоидных ядер и соответствующем увеличении полиплоидных ядер, уменьшении ядерно-цитоплазмных отношений, снижении концентрации и реакции на РНК, снижении реакции на «суммарный» белок, накоплении гликогена, уменьшении содержания нейтральных жиров и активности сукцинатдегидрогеназы.

4. Во второй половине суток (15, 17, 21 час) в печени регистрируется уменьшение средних объемов их ядер, увеличение числа диплоидных клеток при параллельном снижении уровня полиплоидных, увеличение уровня процента двуядерных клеток, увеличение ядерно-цитоплазмных отношений, увеличение концентрации и усиление реакции на РНК, усиление реакции на «суммарный» белок, уменьшение содержания гликогена, увеличение нейтральных жиров и активности сукцинатдегидрогеназы.

5. Естественный и закономерно меняющийся в течение суток уровень обмена веществ в клетках печени мышей влияет на реакции гепатоцитов и степень цитологических и цитохимических изменений под влиянием парентерально введенных в разное время суток стимулирующих доз фенамина. Уровень метаболизма в гепатоцитах стимулированных фенамином мышей возрастает, причем в первой половине суток более значительно, чем во второй. Различная степень активизации фенамином метаболизма в гепатоцитах в разное время суток обуславливает уменьшение амплитуды суточного ритма цитологических и цитохимических показателей обмена веществ.

6. В течение суток продолжительность плавания мышей изменяется. Действие фенамина на продолжительность плавания мышей в значительной мере зависит от времени введения его в организм в течение суток.

7. В условиях дозированных физических нагрузок (тренировка) ритмичность изученных показателей внутриклеточного обмена веществ в гепатоцитах в течение суток сохраняется, характеризуясь возрастанием амплитуды по ряду цитологических показателей (размер клеток, ядерно-цитоплазменные отношения, средний объем ядер, процент полиплоидных клеток, процент диплоидных клеток, суммарный объем ядрышек). Увеличение амплитуды внутриклеточных показателей метаболизма в гепатоцитах животных, подвергнутых дозированным физическим нагрузкам, свидетельствует о проявлении усиления компенсаторно-адаптивных возможностей организма.

8. В условиях длительных физических нагрузок (утомление) отмечается существенное снижение амплитуды суточного ритма изученных показателей внутриклеточного обмена веществ в гепатоцитах. Снижение амплитуды ритма обусловлено тем, что уровень обмена веществ в гепатоцитах в условиях утомления снижается более значительно в первой половине суток, чем во второй. В клетках эпителия печени животных, длительно подвергнутых ежедневным интенсивным физическим нагрузкам, наступает десинхронизация корреляции в динамике некоторых показателей обмена. В частности, четко отмечаемая у интактных, тренированных и подвергнутых воздействию фенамина животных реципрокность в суточном ритме РНК и гликогена в условиях утомления нарушается: во все часы суток регистрируется низкий уровень концентрации РНК и гликогена. Таким образом, диапазон ежесуточных колебаний цитологических и цитохимических показателей внутриклеточного обмена веществ, совершающихся синхронно и реципрокно, следует учитывать при дифференцировке нормы от патологии печени.

9. Полученные данные о характере суточного ритма внутриклеточного обмена веществ в гепатоцитах некоторых млекопитающих в условиях дозированных физических нагрузок (тренировка), длительных и чрезмерных физических нагрузок (утомление) и при введении стимулирующих доз фенамина могут быть приняты во внимание при научных обоснованиях режимов труда и отдыха, при организации тренировок, в вопросах физического воспитания и спорта, а также при решении проблем цитофармакологии.

## СПИСОК

### опубликованных работ по теме диссертации

1. Суточная ритмичность работоспособности у мышей. Сб. „Актуальные вопросы теоретической и клинической медицины“, Тюмень, 1966, 104—106; совместно с Г. Д. Губиным

2. К вопросу о параллелях между суточным внутриклеточным метаболизмом и ритмичностью фаз чувствительности, устойчивости и работоспособности. Сб. трудов Тюменского мединститута, 1968, 323—327. Совместно с Г. Д. Губиным и Э. И. Юровой.

3. Ритмичность и амплитуда концентрации РНК и гликогена в гепатоцитах позвоночных в зависимости от времени суток, возраста и различных физиологических состояний. Морфогенез и регенерация. Труды второй гистологической конференции, посвященной памяти члена-корреспондента АМН СССР профессора Ф. М. Лазаренко. Тюмень, 1970, 526—531. Совместно с Г. Д. Губиным, Л. А. Коноваловой, Р. С. Никодимовой.

4. Суточная ритмика внутриклеточного обмена веществ гепатоцитов и онто- и филогенезе позвоночных. IX Международный конгресс анатомов, тезисы докладов, 1970. Совместно с Г. Д. Губиным, Л. А. Коноваловой.

5. К вопросу о суточном ритме и законе начального уровня. Физико-химические проблемы в современной биологии и медицине. Материалы конференции. Тюмень, 1970, 250—252. Совместно с Г. Д. Губиным, Р. С. Никодимовой.

6. Влияние фенамина на работоспособность организма в зависимости от времени суток. Труды конференции, посвященной 100-летию со дня рождения В. И. Ленина. „Биохимические процессы при некоторых состояниях организма“. Тюмень, 1970, 11, 147—149.

7. Реакция организма на внешние воздействия и проблема биологических часов. Материалы конференции „Вопросы совершенствования специализированной медицинской помощи населению“, Тюмень, 1973, 19—20. Совместно с Г. Д. Губиным, Р. С. Никодимовой, В. П. Латенковым.

8. К вопросу о пространственно-временной организации функции печеночной клетки. Материалы конференции „Вопросы совершенствования специализированной медицинской помощи населению“, Тюмень, 1973, 102—103. Совместно с Г. Д. Губиным, М. В. Севериным, Л. А. Коноваловой, Р. С. Никодимовой.

9. Особенности суточного ритма ядерно-цитоплазмических отношений и объемов ядер гепатоцитов некоторых млекопитающих при различной физической нагрузке. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 1974, 2, 80—83.

Таблица 1

## Цитологические показатели метаболизма гепатоцитов мышей после инъекций феномина через три часа в разное время суток

Часы суток	Размер клеток ( $\mu^2$ )		Ядерно-цитоплазменные отн.		Средний объем ядер ( $\mu^3$ )		% полиплоидных ядер		% двуядерных клеток		Суммарный объем ядрышек в ядре ( $\mu^3$ )	
	К	Ф-3	К	Ф-3	К	Ф-3	К	Ф-3	К	Ф-3	К	Ф-3
5	273	204	1 : 5,33	1 : 4,18	244,9	231,7	75,9	70,0	13,7	21,5	4,76	4,74
23	217	192	1 : 4,56	1 : 3,99	200,9	201,4	64,3	58,0	17,5	20,0	4,36	4,65
Средне-суточные	230	190	1 : 480	1 : 3,94	226,8	202,3	71,6	60,0	15,9	19,5	4,50	4,31

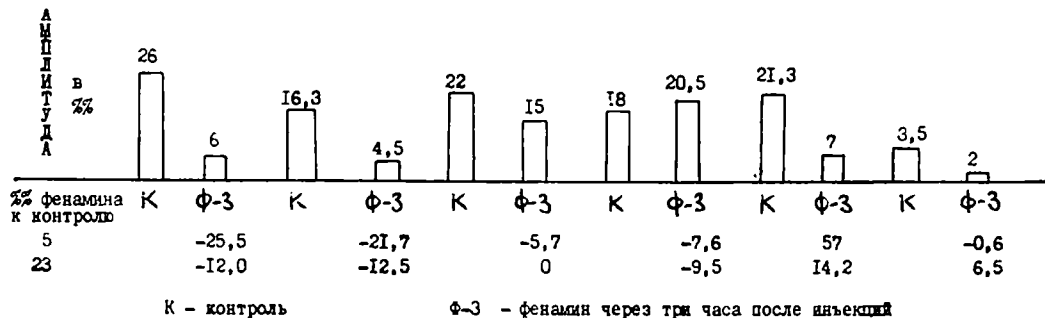




Таблица 2

## Цитологические показатели метаболизма гепатоцитов мышей и крыс в условиях тренировки и утомления в разное время суток

Часы суток		Размер клеток ( $\mu^2$ )			Ядерно-цитоплазматические отношения			Средний ( $\mu^3$ ) объем ядер			% полиплоидных ядер			% двуядерных клеток			Суммарный объем ядрышек в ядре ( $\mu^3$ )		
		К	Т	У	К	Т	У	К	Т	У	К	Т	У	К	Т	У	К	Т	У
3	мыши	262	275	189	1:4,78	1:4,83	1:3,77	262	317	171	81,7	90,5	53,7	19,9	21,6	22,4	4,25	4,46	2,96
	крысы	247	248	191	1:4,60	1:4,68	1:3,98	247	251	210	82,5	89,5	71,5	6,5	7,0	10,0	4,62	4,91	4,60
21	мыши	167	156	152	1:3,93	1:3,73	1:3,57	183	169	138	59,5	57,5	42,2	22,3	26,3	21,5	3,27	3,15	2,62
	крысы	184	147	178	1:3,64	1:3,57	1:3,72	196	171	191	70,0	44,0	64,5	10,5	12,0	10,5	3,92	3,64	4,25
Среднесуточные	мыши	208	216	116	1:4,36	1:4,35	1:3,79	194	238	156	70,1	74,2	50,2	22,1	24,3	21,2	3,59	3,81	2,67
	крысы	212	187	181	1:4,15	1:3,98	1:4,07	217	212	190	70,5	68,8	62,2	7,7	10,5	10,6	3,69	4,25	4,49

