

**СЕВЕРИН
Макс
Валентинович**

*Заведующий кафедрой биологии УГМА,
член-корреспондент РЭА,
доктор медицинских наук, профессор*

РЕГЕНЕРАЦИЯ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ В УСЛОВИЯХ ЭКСТРЕМАЛЬНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ

Настоящее исследование является частью проблемы, разрабатываемой Заслуженным деятелем науки России, академиком РАЕН, профессором Анатолием Петровичем Ястребовым по изучению влияния экстремальных факторов на организм.

Регенерация уже многие годы привлекает пристальное внимание исследователей, и этот интерес обусловлен как необходимостью познания ее закономерностей, так и поиском возможностей целенаправленно влиять на механизмы ее регуляции. При этом пересмотрено сложившееся ранее мнение о крайне слабой регенерационной способности тканей и органов высокоразвитых организмов, описаны различные способы восстановления и компенсации утраченных структур [4, 8, 9].

Однако, несмотря на большой фактический материал, многие стороны регенераторного процесса до настоящего времени остаются либо недостаточно изученными, либо спорными. Это касается, прежде всего, особенностей регенерации в условиях действия на организм экстремальных факторов. Последние, нарушая тканевой гомеостаз, повышают повреждение тканей и тем самым значительно усиливают запрос на репарацию. Необходимость усиления функциональной активности ткани для сохранения гомеостаза организма в этих условиях существенно повышает износ функционирующих структур, что также требует усиленного их обновления и образования дополнительного количества, следовательно, сохранение или индукция регенераторных процессов может быть одним из самых существенных факторов, способствующих восстановлению нарушенного гомеостаза [5, 7].

Среди экстремальных факторов одно из ведущих мест занимает ограничение двигательной активности организма, создающее предпосылки к развитию разнообразной патологии [1, 2, 3, 6], что свидетельствует об актуальности проблемы влияния гипокинезии на регенерацию органов и тканей и целесообразности использования ограничения двигательной активности при изучении закономерности репаративных процессов в экстремальных условиях.

Одной из центральных проблем при изучении регенераторных процессов является подбор ткани (органа), позволяющий наиболее полно оценить все стороны регенерации, и создание модели, адекватной поставленным задачам.

В качестве экспериментальной модели для изучения особенностей регенерации ткани в условиях гипокинезии была выбрана поджелудочная железа. Последнее обусловлено тем, что она:

1) имеет исключительно большое значение для жизнедеятельности организма и занимает третье место после аппендицита и холецистита в неотложной хирургии органов брюшной полости, а летальность, особенно при распространенном панкреанекрозе, остается высокой;

2) характеризуется стабильностью морфологических и функциональных показателей, что позволяет четко показать и проанализировать влияние экстремальных факторов на механизмы адаптации к ним;

3) при изучении железистых структур возможно использовать комплекс современных методов исследования, судить об единстве и взаимосвязи структуры, функции и обменных процессов секреторных клеток;

4) характеризуется медленно профилирующими клеточными популяциями, а значит, дает возможность выявить ряд особенностей репаративной регенерации, действующих и в других органах, но исследование которых затруднено в тканях, отличающихся бурным развитием репаративных процессов;

5) железе свойственно сочетание клеточной и внутриклеточной регенерации, позволяющее оценить значимость последних в восстановительных и компенсаторных процессах. При этом с целью индукции регенерации и изучения закономерностей регенерационных процессов в поджелудочной железе удобно использовать ее частичную резекцию, поскольку в данном случае уменьшение ткани органа не сопровождается изменением соотношения между составляющими его элементами. На основании вышеизложенного были сформулированы основная цель и задачи исследования.

Целью работы явилось исследование влияния гипокинезии различной продолжительности на процессы физиологической и репаративной регенерации экзокринного эпителия поджелудочной железы и поиски подходов к их оптимизации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве экспериментальных животных использовали белых беспородных крыс-самцов, массой 170-200 граммов. В опытах использовано 1528 животных.

Искусственное создание у животных состояния гипокинезии осуществлялось при помощи специально разработанных гипокинетических зажимных клеток-пеналов с металлическим каркасом, для каждого животного в отдельности.

Учитывая наличие суточных ритмов биологических процессов, исследование физиологической регенерации в экзокринном эпителии поджелудочной железы проводили в 9 и 15 часов.

В экспериментах по изучению влияния гипокинезии на физиологическую регенерацию поджелудочной железы анализы проводились через 5, 30, 100 суток после начала действия экстремального фактора.

Репаративную регенерацию индуцировали путем частичной панкреатомии. Операция проводилась под эфирным наркозом. Масса удаляемой части железы составила 60%.

Оценку регенераторных процессов проводили через 5, 15, 30 и 100 суток после операции.

Контролем служили крысы, подвергавшиеся лапаротомии, которым при соблюдении всей подготовки к частичной панкреатомии производили лишь вскрытие брюшной стенки животных без нанесения травмы органу с последующим ушиванием.

Влияние метаболитов на репаративную регенерацию. Препараты начинали вводить сразу после операции, ежедневно в течение пяти суток. Суточные их дозы составляли при внутрибрюшинном введении для сукцината натрия 50 мг/кг массы животного, инозина — 40 мг/кг, индометацина — 10 мг/кг, при подкожном введении α -токоферола-ацетата (витамина Е) — 50 мг/кг. Использовали также сочетанное внутрибрюшинное применение наиболее эффективных препаратов — инозина (в суточной дозе 40 мг/кг) и те-

офилина (25 мг/кг). Контрольным животным вводили внутривентриально 1,0 мл физиологического раствора. Оценку регенерации проводили через 5 и 30 суток после операции и одновременного начала действия экстремального фактора.

Методы исследования регенерации поджелудочной железы. Для оценки регенерации использовались гистологические, цитологические и гистохимические методы исследования, при оценке количества ДНК и РНК применялся фотографический вариант метода сканирующей цитофотометрии.

Определение ультраструктур осуществлялось электронномикроскопическим исследованием.

Определение площади ядер и цитоплазмы производили путем математических расчетов.

Определение индекса альтерации производилось подсчетом ядер, подвергшихся лизису, рексису, пикнозу. Расчет производился на 30000 клеток и выражался в промилле.

Подсчет фаз митотически делящихся клеток (МИ) производился на 30000 клеток, и результаты выражались в промилле.

Определение плоидности — фотоэлектрическим методом цитофотометрии.

Интенсивность синтеза ДНК оценивалась по скорости включения тимидина (5-метил ^3H) с удельной активностью 0,53 гигабеккерелей на миллимоль, синтеза РНК — по скорости включения уридина ($5^3\text{P}-5$) монофосфата (аммонийная соль), удельной активностью 1,92 гигабеккерелей на миллимоль, синтеза белка — по скорости включения ^{14}C -Д-З-лейцина, удельной активностью 1,92 гигабеккерелей на миллимоль. Радионуклиды вводились внутривентриально из расчета 9,25 килогеккерелей на 1 грамм веса тела на физиологическом растворе за два часа до декапитации животного. Радиометрический анализ проб был проведен методом жидкостной сцинтилляции на счетчике Дельта 300 и СБС-2. Интенсивность включения тимидина — ^3H , уридина — ^3H и лейцина — ^{14}C выражалась в БК/ 10^6 клеток.

Статистическая обработка результатов проведена методом вариационной статистики. При $P < 0,05$ различия между сравниваемыми средними арифметическими считали достоверными.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Регенераторный процесс в ацинарных клетках поджелудочной железы имеет много общего с регенерацией других органов и тканей, что, в частности, находит свое отражение в фазности его течения, когда деструкция клеточных элементов предшествует их усиленному восстановлению и между этими процессами устанавливается определенный баланс, который может быть нарушен при действии на организм экстремальных факторов.

Второй общей чертой является четкая суточная ритмика регенерации. Для первой половины суток характерна более высокая функциональная активность ядра: ядерная оболочка отличается многочисленными и, в значительной степени, расширенными порами, хроматин в виде отдельных осмиофильных гранул равномерно расположен в кариоплазме, часто обнаруживаются два и более ядрышек, которые выглядят более крупными, т.е. активизирован синтез нуклеиновых кислот и их выход из ядра для обеспечения синтетических процессов. Во вторую половину суток активность ядра, судя по ультраструктурным показателям, значительно снижается.

Утренние часы характеризуются более высокой продукцией секрета в ацинарных клетках поджелудочной железы. На наружных мембранах эндоплазматической сети расположено большое количество регулярно расположенных рибосом, эти элементы находятся в интимном отношении с четко контурированными митохондриями, имеющими гиперплазированные кристы. Цитоплазматический пластинчатый комплекс хорошо развит, занимает значительное пространство и в районе его расположения сосредоточены митохондрии, рибосомы, объединенные в розетки. Образуемый ими комплекс составляет ультраструктурную основу, обеспечивающую связь между энергетическими и пластическими процессами, доказательству которой посвящен целый ряд исследований [10, 11]. Во вторую же половину суток преобладают процессы выделения секрета, о чем свидетельствует накопление зимогена (секрета) в просвете канальцев эндоплазматической сети, цитоплазматического пластинчатого комплекса, в апикальных отделах ацинарных клеток и выводных протоках, а также сокращение площади, занимаемой органоидами, и менее выраженная взаимосвязь между ними. При этом уменьшаются в размерах как сами клетки (9 ч. — $250,1 \pm 2,0$; 15 ч. — $234,5 \pm 1,1$ мкм²; $P < 0,01$), их ядра (9 ч. — $49,85 \pm 0,2$; 15 ч. — $47,2 \pm 0,1$ мкм²;

*Регенерация органов и тканей
в условиях экстремального повреждения*

$P < 0,01$) и цитоплазма (9 ч. — $200,25 \pm 1,9$; 15 ч. — $187,3 \pm 1,1$ мкм²; $P < 0,01$) при сохранении ядерно-цитоплазматических соотношений (9 ч. — $0,249 \pm 0,006$; 15 ч. — $0,253 \pm 0,001$ усл.ед.; $P < 0,05$).

В первую половину суток идет также синтез внутриклеточного белка, т.к. в апикальных отделах клеток содержится в большом количестве свободные рибосомы, объединенные в полисомы и розетки.

Повышение содержания РНК на 86,32% (9 ч. — $1,2 \pm 0,02$; 15 ч. — $2,18 \pm 0,05$ усл. ед.; $P < 0,01$) и «суммарных» белков в ней, более высокая интенсивность включения ¹⁴C-лейцина в белковые молекулы во вторую половину суток (9 ч. — $2,45 \pm 0,05$; 15 ч. — $5,76 \pm 0,2 \cdot 10^6$ кл.; $P < 0,01$) свидетельствуют о более интенсивном синтезе белка, который используется, вероятно, преимущественно на построение интенсивно разрушающихся в этот период внутриклеточных структур.

Утренний период суток характеризуется высокой пролиферативной активностью клеток, на что указывает более высокий митотический индекс (9 ч. — $0,99 \pm 0,001$; 15 ч. — $0,39 \pm 0,03\%$; $P < 0,01$), увеличенное включение ³H-тимидина в клетки (9 ч. — $0,06 \pm 0,008$; 15 ч. — $0,04 \pm 0,005\%$; $P < 0,01$) и в ДНК (9 ч. — $6,18 \pm 0,1$; 15 ч. — $4,2 \pm 0,2 \cdot 10^6$ кл.; $P < 0,01$), возрастание количества плоидных клеток (9 ч. — $18,7 \pm 0,2\%$; $P < 0,01$).

Таким образом, физиологическое обновление изнашивающихся структур органа имеет четко выраженный фазный характер, при котором волна деструкции клеточных элементов сменяется волной репаративных процессов. Деструктивные процессы в наибольшей степени проявляются во вторую половину суток, в то время как репродуктивные процессы преобладают в утренние часы, когда ацинарные клетки более активно вступают в S-период интерфазы клеточного цикла, идет накопление ДНК-синтезирующих и полиплоидных клеток, активизирована митотическая активность, т.е. осуществляется клеточный тип регенерации. Во вторую половину суток более активно идет внутриклеточная органоидная регенерация.

Увеличение числа митозов в утренние часы и снижение их в вечерние характерно для большинства органов крыс, мышей и других лабораторных животных, ведущих ночной образ жизни. Этот показатель находится в обратной зависимости к двигательной активности животных.

При ограничении подвижности крыс в начале гипокинезии (5-е сутки) при сохранении дольчатого строения экзокринного эпителия

отмечаются нарушения ацинарного строения железы в дольках. В различных участках на протяжении долек выявляются очаги декомплексации, выражающиеся в утрате связи клеток с ацинусом. Через 30 суток участки декомплексации захватывают уже целые ацинусы, а через 100 суток — целые дольки железы.

В значительной степени нарушаются морфофункциональные характеристики клеток. Если в первые дни действия экстремального фактора ядра еще четко контурированы, имеют округлую форму и базофильны, хотя процент подверженных пикнозу, рексису и лизису возрастает, то с увеличением продолжительности ограничения подвижности четкость их границ постепенно нарушается, а к концу эксперимента значительно увеличивается число клеток, где ядерные структуры перестают выявляться или ядра имеют нечетко контурируемые оболочки и характеризуются слабовыраженной базофилией, при этом многие подвержены рексису и лизису. Согласно данным электронной микроскопии, в процессе гипокинезии отмечается постепенное исчезновение и деформация наружных и внутренних ядерных мембран, первые теряют связь с рибосомами, число ядерных пор сокращается, хроматин неравномерно распределяется в ядре с его конденсацией и даже потерей. Ядрышки ядер уже на начальных этапах гипокинезии выглядят уменьшенными в своих размерах и располагаются ближе к внутренней ядерной мембране, а в ряде случаев контактируют с ней, т.е. сохраняют свою, хотя и менее выраженную, функциональную активность, утрачивают четкость контуров. К 100-м суткам в значительной части клеток они не выявляются вообще. Следовательно, в условиях продолжающегося действия гипокинезии, согласно морфологическим показателям, функциональная активность ядер падает, что подтверждается уменьшением ДНК в ядрах и РНК в ядрышках.

При ограниченной подвижности значительно нарушается и секретообразующая функция железы, что обусловлено соответствующими структурными нарушениями в клетке. С увеличением длительности гипокинезии уменьшается плотность упаковки эндоплазматической сети (интактные — $49,24 \pm 0,58$; 5-е — $48,48 \pm 0,59$; 30-е — $48,60 \pm 0,09$; 100-е — $45,6 \pm 0,2\%$; $P < 0,01$), последняя подвергается деструктивным изменениям, вплоть до фрагментации и распада мембраны, снижается количество регулярно расположенных на них и собранных в полисомы рибосом.

Цитоплазматический пластинчатый комплекс уменьшается в размерах, его мембраны подвергаются фрагментации. Последнее дает основание предположить в качестве одного из возможных механизмов нарушения секретообразующей функции клеток недостаточное энергетическое ее обеспечение при действии данного экстремального фактора.

Нарушению энергетических процессов в клетке способствуют уменьшение количества митохондрий, деструктивные изменения их наружных и внутренних мембран, вакуолизация, сокращение числа и фрагментация крист. Отмечается понижение энергетической эффективности митохондрий (интактные — $0,04 \pm 0,001$; 5-е — $0,03 \pm 0,001$; 100-е — $0,01 \pm 0,0005$ мкм²; $P < 0,01$). В то же время митохондрии увеличиваются в размерах, возрастает плотность их упаковки (интактные — $4,75 \pm 0,2$; 5-е — $5,1 \pm 0,2$; 30-е — $5,1 \pm 0,1$; 100-е — $6,6 \pm 0,1\%$; $P < 0,01$), т.е. имеет место некоторая компенсаторная активация внутриорганойдной регенерации.

Уменьшение в апикальных отделах клеток свободных рибосом, полисом и розеток указывает на сокращение синтеза и внутриклеточного белка.

Снижение синтеза белка подтверждается падением концентрации РНК в цитоплазме (интактные $1,1 \pm 0,02$; 100-е — $0,97 \pm 0,05$ усл. ед.; $P \pm 0,01$) и интенсивности включения ¹⁴С-лейцина в клетки (интактные — $2,4 \pm 0,05$; 30-е — $2,1 \pm 0,03$; 100-е — $0,03 \pm 0,05 \cdot 10^6$ кл.; $P < 0,01$).

После начального увеличения площадей ацинарных клеток, их ядер и цитоплазмы на начальных этапах действия экстремального фактора (интактные — площадь клетки — $245,1 \pm 6,2$; 5-е — $278,3 \pm 1,2$ мкм²; $P < 0,01$; площадь ядер — соответственно $49,25 \pm 0,08$; $53,3 \pm 0,09$ мкм²; $P < 0,01$; площадь цитоплазмы — $195,8 \pm 3,2$; $245,0 \pm 1,3$ мкм²; $P < 0,01$) и носящих, очевидно, компенсаторный характер, наблюдается прогрессивное уменьшение этих показателей ниже контрольных величин (100-е соответственно $212,8 \pm 2,2$; $45,5 \pm 0,8$; $167,2 \pm 1,5$ мкм²; $P < 0,01$). Однако ядерно-цитоплазмальный индекс долгое время существенно не меняется, увеличиваясь лишь на поздних стадиях гипокинезии (интактные — $0,250 \pm 0,002$; 5-е — $0,238 \pm 0,009$; 30-е — $0,252 \pm 0,001$; 100-е — $0,272 \pm 0,003$ усл. ед.), что свидетельствует о более значительном уменьшении цитоплазмы.

Прогрессивно падает пролиферативная активность клеток, уменьшаются митотический индекс, индекс меченых ^3H -тимидином клеток, интенсивность включения ^3H -тимидина в ДНК (табл.1).

В условиях ограничения двигательной активности возрастает альтерация клеток, но выраженность этого процесса меняется в дина-

Таблица 1

Характеристика пролиферативной активности ацинарных клеток поджелудочной железы при гипокинезии ($\bar{X} \pm m$; P)

Показатель	Интактные крысы	Гипокинезия, сутки		
		5	30	100
Митотический индекс, промилле	$0,90 \pm 0,05$	$0,01 \pm 0,008$ *	$0,41 \pm 0,100$ **	$0,00 \pm 0,00$ ***
Индекс меченых ^3H -тимидином ядер, ИМЯ, %	$0,04 \pm 0,007$	$0,002 \pm 0,001$ *	$0,026 \pm 0,005$ **	$0,00 \pm 0,00$ ***
Интенсивность включения ^3H -тимидина в ДНК, беккерели на 10^6 клеток	$6,18 \pm 0,10$	$5,50 \pm 0,30$ *	$5,63 \pm 0,20$ **	$3,00 \pm 0,02$ ***
Содержание ДНК в ядрах, усл. ед.	$0,40 \pm 0,01$	$0,39 \pm 0,01$	$0,39 \pm 0,01$	$0,36 \pm 0,007^*$
Содержание РНК в ядрышках ядер, усл. ед.	$0,09 \pm 0,001$	$0,10 \pm 0,001$	$0,06 \pm 0,001$ **	$0,068 \pm 0,007$ **
Содержание РНК в цитоплазме, усл. ед.	$1,10 \pm 0,02$	$1,30 \pm 0,02$ *	$1,14 \pm 0,02$ **	$0,97 \pm 0,05$ ***
Включение в белок клеток ^{14}C -лейцина, беккерели на 10^6 клеток	$2,40 \pm 0,05$	$2,80 \pm 0,06$ *	$2,10 \pm 0,03$ **	$0,30 \pm 0,05$ ***

Примечания: достоверные показатели ($P < 0,05$) обозначены:

* относительно интактных животных;

** относительно одноименного показателя на 5-е сутки;

*** относительно одноименного показателя на 30-е сутки.

мике воздействия. Резкая активация деструкции клеток на начальных стадиях несколько ослабевает к 30-м суткам, а затем вновь резко увеличивается на поздние сроки (интактные — $1,09 \pm 0,07$; 5-е — $3,88 \pm 0,3$; 30-е — $1,94 \pm 0,1$; 100-е — $4,90 \pm 0,1$; $P < 0,01$). Гипокинезия задерживает восстановление утраченных в процессе функционирования клеточных структур, что создает условия повышенной функциональной нагрузки на оставшуюся часть клеток, способствуя ускорению развития в них дезадаптивных процессов. Последнее подтверждается изменением метаболизма нуклеиновых кислот сопровождающимся нарушением в белоксинтезирующем аппарате по схеме ДНК — РНК — белок. Ядра ацинарных клеток теряют наследственный потенциал, в ДНК нарушаются процессы ее репликации, и, как следствие, снижается содержание РНК в ядрышках ядер и цитоплазме. В результате клетки, с одной стороны, перестают синтезировать в полном объеме секрет, а с другой — снижается их способность к плоидизации.

Репаративная регенерация. Морфологические исследования поджелудочной железы, регенерирующей после резекции как в условиях гипокинезии, так и у животных без ограничения подвижности, свидетельствуют о наличии общих изменений в ранние сроки после операции (5-е сутки). В экзокринном эпителии сохраняется дольчатое строение органа, но дольки железы за счет разрыхления междольковой соединительной ткани неплотно прилегают друг к другу вследствие выраженного отека. В области нанесения травмы выявляются очаги кровоизлияний и некроза. В различных участках на протяжении долек обнаруживаются очаги декомплексации ацинарных клеток, которые у иммобилизированных животных более выражены и занимают более значительную площадь. Различия в полной мере проявляются к 30-м суткам, когда у подвижных животных морфологические структуры железы полностью восстанавливаются, а в условиях гипокинезии нарушения морфологического строения регенерирующей железы сохраняются и на 100-е сутки эксперимента.

По данным электронной микроскопии, на начальные сроки регенерации ядра большинства ацинарных клеток не увеличены в размерах, но среди них встречаются синтезирующие нуклеиновые кислоты — ядра со значительным расширением перинуклеарного

пространства, мембраны которых содержат многочисленные расширенные поры, с увеличенным количеством хроматина и с увеличенным числом ядрышек. Обнаруживаются также ядра, хроматин которых приобретает вид гомогенной массы, или наблюдается сокращение всего ядерного вещества, количество ядрышек уменьшено, т.е. функционально неактивные. Последние чаще встречаются у животных с ограниченной подвижностью.

К 15-м суткам у подвижных животных функциональная активность ядер возрастает: перинуклеарное пространство расширено, обнаруживаются многочисленные поры, возрастает количество хроматина, который умеренно распределен в кариоплазме, ядрышки ядер увеличиваются в размерах, наружные ядерные мембраны содержат многочисленные рибосомы. К 30-м суткам указанные изменения еще более выражены, а к 100-м ядерные структуры не отличаются от таковых у интактных животных.

В условиях гипокинезии состояние ядер на 15-е сутки соответствует начальной стадии регенерации, на 30-е — совпадает с характеристиками на 15-е сутки у подвижных животных. На 100-е же сутки гипокинезии вновь нарастает количество ядер со сниженной функциональной активностью.

Уменьшение массы железы в результате резекции приводит к увеличению нагрузки на оставшиеся клетки, продуцирующие секрет в большем количестве, чем у интактных животных. Эндоплазматическая сеть ацинарных клеток регенерирующей поджелудочной железы в ранние сроки после резекции как в условиях гипокинезии, так и без ограничения двигательной активности животных отличается значительным расширением канальцев и цистерн. При этом в условиях гипокинезии мембраны эндоплазматической сети содержат сферической формы рибосомы. В последующие сроки у подвижных животных она хорошо развита, на своих мембранах содержит большое количество рибосом, объединяющихся в полисомы и розетки, а к концу эксперимента ее структура ничем не отличается от интактных животных. Плотность упаковки эндоплазматической сети практически не меняется на протяжении всего эксперимента. В условиях гипокинезии она выражена значительно слабее, мембраны выявляются нечетко, многие из них фрагментированы и подвержены разрушению, количество рибосом на мембранах уменьшено, содержание хлопьевидного осmioфильного вещества в расширенных и

вакуолизированных канальцах и цистернах незначительно, а плотность упаковки прогрессивно снижается (интактные — $49,24 \pm 0,58$; 15-е — $47,2 \pm 0,09$; 30-е — $46,6 \pm 0,09$; 100-е — $43,8 \pm 0,7\%$; $P < 0,01$).

Исследование цитоплазматического пластинчатого комплекса ацинарных клеток в процессе репаративной регенерации показывает, что в ранние сроки после резекции поджелудочной железы образующие его элементы занимают значительную протяженность, редко подвержены фрагментации. В районе его расположения обнаруживаются митохондрии, свободные рибосомы, а также гранулы зимогена на различных стадиях его созревания, т.е. ультраструктурный комплекс, обеспечивающий взаимосвязь между энергетикой и продукцией секрета, страдает меньше, чем другие структуры. При этом в процессе регенерации отмечается компенсаторная гипертрофия митохондрий: появляются увеличенные в размерах митохондрии, содержащие много крист. Плотность упаковки митохондрий после снижения на начальных этапах репаративной регенерации постепенно возвращается к норме, а коэффициент энергетической их эффективности после первоначального увеличения постепенно падает и возвращается к норме. Однако, если у подвижных животных четко прослеживается процесс нормализации большинства указанных показателей, то в условиях длительной гипокинезии к концу эксперимента цитоплазматический пластинчатый комплекс продолжает занимать в клетках незначительное пространство, его мембраны фрагментированы, а среди митохондрий перестают выявляться «юные» и митохондрии с четкой выраженностью двуконтурности мембран, а в ряде случаев нарушается их целостность. При этом коэффициент энергетической эффективности в ранние сроки повышается менее значительно, чем у подвижных животных, а прогрессивное его уменьшение в поздние сроки более значительно (интактные — $0,04 \pm 0,001$; 15-е — $0,023 \pm 0,001$; 30-е — $0,018 \pm 0,001$; 100-е — $0,009 \pm 0,001$ мкм²; $P < 0,01$).

Что касается синтеза внутриклеточного белка, то, судя по содержанию свободных рибосом в апикальных отделах ацинарных клеток, он полностью восстанавливается у подвижных животных уже к 15-м суткам, поскольку морфология этих отделов в это время уже не отличается от показателей у интактных животных. В условиях гипокинезии восстановление не наступает и к 100-м суткам.

Результаты морфологических исследований подкрепляются данными по исследованию синтеза белка гистохимическими и радиологическими методами. У животных без ограничения подвижности отмечается повышение содержания РНК (интактные — $1,1 \pm 0,002$; 5-е — $0,89 \pm 0,01$; 15-е — $2,66 \pm 0,2$; 30-е — $3,39 \pm 0,03$; 100-е — $2,8 \pm 0,02$ усл. ед.) и включения ^{14}C -лейцина в белок на 15–30-е сутки с последующим снижением показаний до величин у интактных животных (интактные — $2,4 \pm 0,05$; 5-е — $1,97 \pm 0,04$; 15-е — $4,8 \pm 0,08$; 30-е — $3,37 \pm 0,2$; 100-е — $2,1 \pm 0,16 \cdot 10^6$ кл.), в то время как при гипокинезии отмечается лишь увеличение содержания РНК на 30-е сутки ($2,2 \pm 0,02 \cdot 10^6$ кл.), интенсивность же включения ^{14}C -лейцина с 15-х суток и до конца эксперимента остается пониженной (15-е — $1,96 \pm 0,03$; 30-е — $2,2 \pm 0,02$; 100-е — $1,0 \pm 1 \cdot 10^6$ кл.). С помощью гистохимических исследований также выявляется пониженное, по сравнению с подвижными крысами, содержание «суммарных» белков в ядрышках ядер и цитоплазме в эти сроки.

Повышенная нагрузка на клетки в ранние сроки после операции сопровождается повышенным их разрушением, судя по возрастанию индекса альтерации (интактные — $1,09 \pm 0,07$; 5-е — $2,6 \pm 0,1$; 15-е — $1,9 \pm 0,07$; 30-е — $0,92 \pm 0,06$; 100-е — $3,61 \pm 0,21\%$), которая в значительной степени ослабевает к 30-м суткам. Однако к 100-м суткам альтерация вновь возрастает. В условиях гипокинезии в разрушении клеток наблюдается та же динамика, но индекс альтерации выражен более значительно (5-е — $4,66 \pm 0,3$; 15-е — $4,56 \pm 0,2$; 30-е — $0,76 \pm 0,05$; 100-е — $5,35 \pm 0,2\%$). Эти данные служат косвенным подтверждением о тормозящем влиянии гипокинезии преимущественно на репаративные процессы, а не на процессы деструкции.

Пролиферативные процессы ацинарных клеток у подвижных животных достигают пиковых величин на 5-е сутки после резекции, о чем свидетельствует резкое повышение митотического индекса, индекса меченых ^3H -тимидином ядер, интенсивности включения ^3H -тимидина в ДНК, содержание ДНК в ядрах постепенно снижается по мере восстановления органа. В условиях же гипокинезии большинство перечисленных показателей достигают максимальных значений лишь на 15-е сутки, чему предшествует некоторое их снижение на ранние сроки после операции. Исключение составляет митотический индекс, который не достигает величин, характерных для интактных животных, в связи с чем следует ожидать изменения плоидности клеток. Полученные данные

свидетельствуют, что если популяция полиплоидных клеток у животных без ограничения подвижности возрастает уже на начальных этапах и остается повышенной до конца эксперимента (интактные — $18,7 \pm 0,29$; 5-е — $26,8 \pm 0,4$; 30-е — $27,1 \pm 0,2$; 100-е — $25,2 \pm 1,6\%$; $P < 0,01$), то в условиях гипокинезии (5-е — $9,2 \pm 0,5$; 15-е — $22,9 \pm 0,3$; 30-е — $15,0 \pm 0,3$; 100-е — $00 \pm 00\%$; $P < 0,001$), число таких клеток уменьшается вплоть до полного исчезновения.

Таким образом, анализ пролиферативной активности ацинарных клеток свидетельствует, что гипокинезия задерживает в значительной степени пролиферативные процессы, снижая число клеток, вступающих в S-период интерфазы клеточного цикла. Нарушаются процессы полиплоидизации клеток. На начальных этапах регенерации влияние гипокинезии на этот процесс незначительно, в разгар репаративных процессов оно более выражено, а на завершающих этапах восстановительных процессов, как и в случае физиологической регенерации, начинает доминировать повреждающее действие экстремального фактора на железу.

Можно полагать, что ингибирующий эффект гипокинезии на регенерацию поджелудочной железы может быть обусловлен специфическим влиянием на регенерацию метаболических процессов в поджелудочной железе и в организме.

В этой связи нами было исследовано действие на регенерацию поджелудочной железы в условиях гипокинезии некоторых метаболитов и препаратов, влияющих на состояние метаболических процессов в тканях.

Исследовалось действие витамина Е, который в качестве антиоксиданта участвует в регуляции процессов перекисного окисления липидов, ингибируя распад полиненасыщенных жирных кислот, обладает способностью стабилизировать клеточные мембраны и тем самым может тормозить пролиферативные процессы; индометацина, участвующего в образовании из полиненасыщенных жирных кислот простагландинов и блокирующего синтез этих внутриклеточных мессенджеров; теофиллина, являющегося ингибитором фосфодиэстеразы и повышающего уровень цАМФ; инозина, оказывающего стимулирующее влияние на синтез нуклеотидов, синтез полисахаридов и гликогена, ДНК и РНК, окислительно-восстановительные процессы, повышающего оксигенацию тканей, аэробный гликолиз, активизирующего транспорт электронов в дыхательной

цепи, активность ферментов цикла Кребса, ацетил Ко А; сукцината натрия, оказывающего влияние на сукцинатоксидазную систему, окисление НАД-зависимых субстратов и уровень эндогенного сукцината и глутамата.

Проведенные исследования показали, что наибольшей активностью на состояние пластических процессов поджелудочной железы обладают инозин и теофиллин, и это дает основание для совместного их использования с целью оптимизации регенераторных процессов в этой ткани. При введении метаболитов в регенерирующем органе меняется, прежде всего, плоидность клеток. На начальных этапах репаративной регенерации поджелудочной железы процент полиплоидных клеток составляет у иммобилизованных животных $9,20 \pm 0,50$, у иммобилизованных крыс, получавших физиологический раствор — $8,57 \pm 0,6$, у «леченных» метаболитами — $22,85 \pm 0,76$, у животных без ограничения подвижности — $23,10 \pm 0,20\%$. На 30-е сутки этот показатель составляет соответственно $15,0 \pm 0,30$; $12,7 \pm 0,50$; $20,14 \pm 0,70$ и $27,10 \pm 0,20\%$. Таким образом показатель приближается к величине, характерной для подвижных крыс.

Поскольку гипокинезия при репаративной регенерации в значительной степени задерживает пролиферативные процессы, снижая число клеток, вступивших в S-период интерфазы клеточного цикла, то введение метаболитов снижает этот эффект, что приводит к увеличению митотического индекса меченых ^3H -тимидином клеток, интенсивности включения ^3H -тимидина в ДНК в клетках, включения ^3H -уридина в РНК, включения ^{14}C -лейцина в белок на все сроки наблюдения. Анализ эффективности применения метаболитов у животных с регенерирующей после частичной резекции поджелудочной железой в условиях гипокинезии свидетельствует, что препараты существенно не изменяют последовательность и продолжительность фаз репаративной регенерации. Однако они значительно ослабляют тормозящий эффект на регенерацию длительной гипокинезии, вероятно, в силу их влияния на метаболические процессы в организме.

На основании проведенных исследований влияние гипокинезии на регенерацию поджелудочной железы можно представить в виде следующей схемы, которая также и отражает возможные пути оптимизации регенераторных процессов в ней с помощью метаболитов (схема).

*Регенерация органов и тканей
в условиях экстремального повреждения*

Гипокинезия

Физиологическая регенерация

Репаративная регенерация

ПРОЦЕССЫ ДЕСТРУКЦИИ	ВОССТАНОВИ- ТЕЛЬНЫЕ ПРОЦЕССЫ	ВНУТРИКЛЕТОЧ- НАЯ РЕГЕНЕРА- ЦИЯ	КЛЕТОЧНАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ
1. Возрастание деструкции органоидов клеток 2. Развитие дезадаптивных процессов клеток 3. Увеличение числа погибающих клеток	1. Активация внутриорганоидной регенерации митохондрий 2. Снижение органоидной регенерации клеток 3. Снижение пролиферативной активности клеток	1. Снижение функциональной активности ядер: - конденсация хроматина - уменьшение количества пор мембраны - уменьшение размеров ядра - уменьшение количества и размеров ядрышек 2. Замедление восстановления: - эндоплазматической сети - рибосом - элементов цитоплазматического комплекса - митохондрий 3. Снижение пластических процессов	1. Снижение синтеза ДНК: - снижение интенсивности синтеза ДНК в клетках - уменьшение числа ДНК-синтезирующих клеток 2. Уменьшение числа митотически делящихся клеток 3. Уменьшение числа полиплоидных клеток 4. Возрастание количества поврежденных клеток (индекса альтерации)

Схема. Влияние гипокинезии
на регенерацию поджелудочной
железы

**ОПТИМИЗАЦИЯ РЕГЕНЕРАЦИИ С ПОМОЩЬЮ
МЕТАБОЛИТОВ И ПРЕПАРАТОВ, ИЗМЕНЯЮЩИХ
В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ АКТИВНОСТЬ:**

- генетического аппарата
- системы аденилатциклазы — цАМФ
- синтеза простагландинов
- перекисного окисления липидов

Выводы

1. Физиологическая регенерация поджелудочной железы имеет четко выраженный фазный характер, при котором волна деструкции клеточных элементов, приходящаяся на вторую половину суток, сменяется в утренние часы волной репаративных процессов, когда ацинарные клетки вступают более активно в период S-интерфазы клеточного цикла, идет накопление ДНК-синтезирующих и полиплоидных клеток, повышена митотическая активность. В это время отмечается более выраженная гипертрофия ядер, увеличение числа и размеров ядрышек, мембраны эндоплазматической сети плотно упакованы и содержат повышенное количество рибосом, расширяется территория цитоплазматического пластинчатого комплекса, митохондрии увеличиваются в размерах, в них отмечается гиперплазия внутренних перегородок.

2. Гипокинезия снижает органоидную регенерацию в ткани поджелудочной железы, что приводит к развитию дезадаптивных процессов в клетках и сопровождается повышением их гибели, а также задерживает пролиферативные процессы в ней как у неоперированных животных, так и у животных после резекции части органа.

3. Клеточная регенерация ацинарных клеток поджелудочной железы в условиях гипокинезии характеризуется снижением числа митотически делящихся клеток, клеток, вступающих в S-период интерфазы клеточного цикла, уменьшением полиплоидизации клеток. При этом отмечается интенсивная гибель клеток, приводящая к сокращению структурно-функциональной базы органа и создающая условия повышенной функциональной нагрузки на оставшуюся часть клеток и развитию в них дезадаптивных процессов, что подтверждается изменением метаболизма нуклеиновых кислот, нарушением процессов редупликации ДНК, снижением содержания РНК в ядрышках ядер и цитоплазме, снижением синтеза белка.

4. Способностью оптимизировать восстановительные процессы ацинарных клеток поджелудочной железы в условиях гипокинезии обладают некоторые метаболиты (сукцинат натрия, инозин, цАМФ) и препараты, влияющие на метаболические процессы в клетке (теофиллин), под влиянием которых существенно меняется течение клеточной и внутриклеточной регенерации.

5. Наиболее эффективным для оптимизации процессов репаративной регенерации ацинарных клеток поджелудочной железы в условиях гипокинезии оказалось сочетанное применение инозина и теофиллина, под влиянием которых увеличивается митотический индекс, индекс меченых ^3H -тимидином клеток, интенсивности включения ^3H -тимидина в ДНК, содержание ДНК в клетках, включения ^3H -уридина в РНК и ^{14}C -лейцина в белок. При этом отмечается большая активность клеточной регенерации, при которой морфофункциональные показатели клеток приближаются к таковым у интактных животных, что свидетельствует о преимущественном влиянии этих препаратов на процессы клеточной пролиферации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабаева А.Г. Поджелудочная железа. // Новое в учении о регенерации. М.: Медицина, 1977. — С. 201-208.
2. Воронцова М.А., Лиознер Л.Д. Физиологическая регенерация. М.: Советская наука, 1955. — 408 с.
3. Кодолова Г.И. О состоянии регенераторных процессов в печени. // Механизмы аварийного регулирования и адаптации при действии на организм экстремальных факторов. Екатеринбург, 1984. — С. 55-65.
4. Саркисов Д.С., Аруин Л.И. Обновление структур организма // Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций / Под редакцией Саркисова Д.С. М.: Медицина, 1987. — С. 20-57.
5. Северин М.В., Юшков Б.Г., Ястребов А.П. Регенерация тканей при экстремальных воздействиях на организм. Екатеринбург: УрГМА, 1993. — 185 с.
6. Селье Г. На уровне целого организма. М.: Наука, 1972. — 122 с.
7. Ястребов А.П., Юшков Б.Г., Большаков В.Н. Регуляция гемопоэза при воздействии на организм экстремальных факторов. Свердловск, УрО АН СССР, 1988. — 152 с.
8. Fitzgerald P.J. Pancreatic acinar cell regeneration: the sequence of major morphological and functional changes // Regulation of organ and tissue growth. New York — London, 1972. — P. 233-256.
9. Prescott D.M. Reproduction of eukariotic cells // N.Y.; L.: Acad. Press, 1967.