УДК 616-003. 93:616.36-071.87.87+001.6

КОДОЛОВА Галина Ивановна

Доцент кафедры биологии УГМА, кандидат биологических наук, доцент

О состоянии регенераторных процессов в печеночной ткани в условиях гипокинезии

Талант — единственная новость, которая всегда нова
Б. Пастернак

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

Проблема регенерации тканей относится к числу наиболее актуальных вопросов современной биологии и медицины. Несмотря на значительный интерес исследователей к этой проблеме, многие механизмы регенерации тканей остаются до настоящего времени нерешенными. Последнее особенно значимо относится к выяснению закономерности регуляторных процессов в условиях воздействия на организм экстремальных факторов. Среди известных экстремальных факторов в настоящее время особый интерес представляет гипокинезия. Последнее связано с тем, что автоматизация и механизация производственных процессов, улучшение быта людей обусловливают значительное снижение энергетических затрат организма и приводят к функциональным и морфологическим перестройкам целого ряда органов и систем [10, 15]. В настоящее время имеются данные, указывающие на сходное течение ряда физиологических процессов при невесомости и гипокинезии [10]. При этом следует отметить, что гиподинамия относится к одному из ведущих патогенетических факторов космического полета. В связи с последним гипокинезия используется как условно приближенная модель в изучении отдельных фактоов невесомости.

Изменения, возникающие при ограничении подвижности, оказывают существенное влияние на состояние больных, длительное время находившихся на строгом постельном режиме [7, 8]. Поэтому исследование проблемы гипокинезии имеет определенное значение для клинической практики. Вместе с тем особенности течения регенераторных процессов, которые в значительной мере определяют адаптивные возможности организма в условиях повреждения, остаются до настоящего времени не изученными.

На основании данных литературы известно, что в условиях гипокинезии происходит нарушение всех видов обмена веществ [6, 11, 4], которое может в значительной мере изменить течение репаративных процессов [18]. Однако такие вопросы, как значение длительности гипокинезии на течение репаративных процессов, механизм влияния на процессы регенерации, остаются неясными.

Настоящее исследование ставит целью изучить интенсивность пластических процессов, состояние физиологической и репаративной регенерации в печени при воздействии гипокинезии различной длительности.

Материалы и методы исследования

Эксперименты проведены на 480 беспородных крысах-самцах весом от 180 до 350 г.

Состояние гипокинезии (ГК) вызывали путем ограничения подвижности в специальных клетках-пеналах, в которые помещали животных. Эксперименты проводились на интактных, иммобилизованных и частично гепатэктомированных (Г-Э) животных. Учитывая наличие суточных ритмов, операции и забой животных проводили в строго определенное время суток: утром — 4^{30}—5 ч., вечером — 16^{30}—17 ч.

Оценка пролиферативных способностей и уровня пластического обмена в печени проводилась с использованием радиометрических, авторадиографических, цитофотометрических и морфологических методов исследования.

Интенсивность синтеза белков печени животных изучали по уровню включения лейцина-1-^{14}C. Опыты были поставлены в 2-х вариантах: in vivo; in vitro. В первом варианте опыта in vivo изотоп вводили внутрибрюшинно за 2 часа до забоя животных. Во втором варианте — in vitro — постановка опыта заключалась в получении клеточной

суспензии интактных гепатоцитов и обработке их меченым лейцином, который вводили по 0,1 мл в пробу при активности его 37000 Кбк/мл. Последующая обработка заключалась в подготовке проб для радиометрического анализа, который был проведен методом жидкостной сцинтилляции на счетчике Delta 300 Tracor Analytic.

Определение индекса меченых ядер (ИМЯ) и параметров митотического цикла проводили гистоавторадиографическим методом с использованием ^{3}Н-тимидина. Тимидин вводили внутрибрюшинно в дозе 18,5 килобеккерелей на 1 г веса тела животного за 1 час до забоя. Кусочки печени фиксировали в жидкости Карнуа, готовили по общегистологической методике срезы толщиной 4—5 мкм. Для выявления меченых ядер использовали ядерную фотографическую эмульсию типа «М». Приготовление рабочего раствора фотоэмульсии проводили по стандартной методике. Индекс меченых ядер (ИМЯ) вычисляли путем отношения числа меченых ядер к общему количеству гепатоцитов и выражали 1:1000. В автографах интактных крыс и крыс, находившихся в условиях ограничения двигательной активности, просчитывали 30000 гепатоцитов, в автографах частично гепатэктомированных крыс — 6000.

Для определения продолжительности периодов митотического цикла использовали две группы животных. В контрольную группу входили животные, предварительно подвергнутые 30-суточной гипокинезии. Животных обеих групп подвергали частичной гепатэктомии и по истечении 24 часов после операции животным производили однократное введение ^{3}Н-тимидина. Обработка материала проводилась по методике, изложенной выше. На препаратах определяли общее число митозов как меченых, так и немеченых на 6000 гепатоцитов и рассчитывали процент меченых митозов. Полученные данные использовали для построения кривой меченых митозов и определения параметров митотического цикла.

Для количественного определения содержания ДНК использовали метод цитофлуорометрического определения нуклеиновой кислоты. Для проведения исследования готовили однослойные отпечатки печени и сперматозоидов. Последние служили эталоном гаплоидной клетки. Препараты подвергали гидролизу, окрашивали этакридин лактатом с последующим определением плотности окрашивания с помощью люминисцентной фотометрической насадки ФМЭЛ-1А на базе люминисцентного микроскопа МЛ-3.

Полученные результаты исследований были обработаны методом вариационной статистики.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведенные исследования позволили выявить, что при действии 5- и 30-суточной гипокинезии изменений в морфологической структуре печеночных долек не происходит. Не установлено нарушений балочной структуры и при действии более длительного обездвиживания — до 100 суток. Гепатоциты, составляющие печеночные балки, по-прежнему имеют полигональную форму и расположены вдоль балки регулярно. Однако в условиях 100-суточной иммобилизации была отмечена стертость клеточных границ гепатоцитов. В отдельных клетках отмечалась слабая базофилия ядер, в других — пикноз или лизис, что свидетельствует о дистрофических и некробиотических изменениях в паренхиме печеночной ткани. Купферовские клетки набухшие, центральные вены и синусоиды полнокровны. Размеры клеток и ядер гепатоцитов уменьшены по сравнению с контрольными величинами.

При гистохимическом исследовании обнаружено снижение гликогена в условиях 5-суточной ГК на 55,86% ($P<0,001$), 30-суточной — на 16,41% ($P<0,05$), 100-суточной — на 57,90% ($P<0,01$). Содержание РНК в цитоплазме гепатоцитов при действии фактора 5-суточной иммобилизации изменениям не подвергалось, а в условиях более длительного обездвиживания прогрессивно снижалось.

Опыты с включением ^{3}Н-тимидина позволили выявить, что в условиях стресса, вызванного 5-суточным обездвижением, индекс меченых ядер снижался на 31,35% ($P<0,001$), митотически делящиеся гепатоциты отсутствовали.

Процесс торможения митозов в условиях 5-суточной гипокинезии, вероятно, обусловлен напряжением гипофизарно-адреналовой системы, повышением секреции глюкокортикоидов, точкой приложения которых является премитотический период клеточного цикла [12]. Блокирование митозов в паренхиме печени установлено при действии перегрузок, гипоксии [17], в условиях экспериментального шока [20], сдавливании мягких тканей конечностей [9]. В этой связи представляет интерес работа [14], в которой отмечено, что стрессорное

воздействие в виде биопсии печени у частично гепатэктомированных животных вызывает блокирование G_2-периода, процесс репликации ДНК оказывается не затронутым и, как следствие, в течение нескольких часов происходит накопление гепатоцитов, закончивших синтез.

В наших исследованиях, проведенных в условиях 5-суточной ГК, показано, что при полном торможении митотического деления гепатоцитов наблюдается достоверное снижение популяции тетраплоидных клеток. На основании этого можно заключить, что при воздействии 5-суточной гипокинезии нарушения в клеточном цикле затрагивают не только процессы, обусловливающие митотическое деление, но и влияют на процессы полиплоидизации гепатоцитов. Распределение плоидности в условиях гипокинетического стресса, характеризующееся длительным повышением кортикостероидов [5], перераспределением аминокислотного фонда и усилением анаболитического синтеза в печени [15], переключением ресурсов клеточного метаболизма на обеспечение специальных функций гепатоцитов [23, 19, 22], вероятно, является результатом длительного нарушения процесса полиплоидизации путем выключения из митотического цикла полиплоидных и двуядерных гепатоцитов как клеток, имеющих высокий потенциал белок-синтезирующего аппарата и, следовательно, обеспечивающих функциональные запросы. Кроме того, известно, что с повышением плоидности снижается способность клеток к пролиферации, например, в условиях репаративного восстановления для них удлиняется пресинтетический период, и ранний ответ на пролиферативный стимул дают диплоидные клетки [2]. Не противоречит выше сказанному тот факт, что в опытной группе животных в условиях полного блокирования митотического деления гепатоцитов число двуядерных клеток не отличалось от контрольных показателей. Кроме того, следует отметить тенденцию к снижению интенсивности мечения ядер, среднее число зерен серебра на ядро одноядерных клеток составило в контрольной группе животных 21,75±0,99, в опытной — 17,40±1,37 ($P<0,05$).

В условиях 30-суточной гипокинезии изменение количества ДНК-синтезирующих клеток не зарегистрировано, митотическая активность гепатоцитов снижена на 24,06% ($P<0,01$), в паренхиме печени идет накопление диплоидных клеток, уровень которых превышает контрольные показатели на 26,89% ($P<0,05$), количество

тетраплоидных клеток снижается на 39,53% ($P<0,05$). Причины уменьшения количества тетраплоидных клеток, вероятно, те же, что и в условиях кратковременной гипокинезии, и связаны с торможением процессов дедифференцировки высокоплоидных клеток, нарушением процесса полиплоидизации и снижением суммарного генома печени. Зарегистрированный процесс накопления двуядерных гепатоцитов в печени опытных животных (+137,55%), вероятно, следует рассматривать как компенсаторную реакцию печени в условиях повышенных катаболических процессов, поскольку функциональные потенции двуядерных клеток более предпочтительны по сравнению с диплоидными клетками. Увеличение количества двуядерных клеток на фоне снижения митотической активности, а также снижение интенсивности мечения ядер до 15,91±1,01 ($P<0,05$) зерен серебра на одно ядро дает основание для заключения о том, что тетраплоидные и двуядерные клетки значительно дольше проходят процесс дедифференцировки, задерживаясь в G_0-G_1-периодах интерфазы. Определение временных параметров митотического цикла у частично гепатэктомированных животных на фоне 30-суточной гипокинезии позволило выявить, что продолжительность синтетического периода была величиной постоянной как для опытной, так и контрольной групп и составила 8 час. Что касается продолжительности G_1 и G_2-периодов, то длительность их увеличивалась в 1,1 и 1,3 раза соответственно.

В условиях 100-суточной гипокинезии снижение популяции ДНК-синтезирующих клеток более чем в 3 раза ($P<0,001$) и митотической активности гепатоцитов на 89,85% ($P<0,001$) свидетельствует о резком нарушении пролиферативных потенций гепатоцитов.

Соотношение клеток по плоидности, выявленное в условиях 30-суточной гипокинезии, сохраняется и при 100-суточном воздействии. Количество тетраплоидных клеток в опытной группе животных составило 31,00±1,41 против 50,50±1,07 в контроле ($P<0,001$), число диплоидных клеток соответственно увеличивалось до 68,00±1,48.

Снижение количества полиплоидных клеток обусловливает уменьшение средней площади ядер на 40,55% (в условиях 30-суточной ГК снижение составило 12,90%), и, как следствие, развивается уменьшение массы цитоплазмы гепатоцитов: в условиях 100-суточной гипокинезии на 38,83%, в условиях 30-суточной — на 12,19%. Прогрессивное снижение цитоплазмы, вероятно, следует рассматри-

вать как проявление нарушения обменных процессов и изменения ультраструктуры клетки. В литературе есть данные, что по мере увеличения срока ГК наблюдается уплотнение цитоплазматического матрикса, резкое сокращение числа митохондрий и полисом [3, 13].

Таким образом, проведенные исследования дают основание для заключения, что 5-суточная гипокинезия вызывает состояние острого стресса, развивающегося на фактор «ограничения свободы», о чем свидетельствует полное торможение митозов и образование блока G_2 — митоз, перераспределение гепатоцитов по плоидности в сторону накопления популяции диплоидных клеток. Действие 30-суточной гипокинезии сопровождается снижением пластических процессов, что согласуется с концепцией ряда исследователей [13, 18]. Развитие морфофункциональных изменений в печени обусловлено торможением митотической активности, нарушением процесса полиплоидизации, накоплением популяции диплоидных клеток. В то же время сохранение популяции ДНК-синтезирующих клеток на уровне контрольных величин свидетельствует о сохранении пластических потенций гепатоцитов. В условиях 100-суточной гипокинезии выявляется замедление темпов дедифференцировки тетраплоидных и двуядерных гепатоцитов, уменьшение абсолютного числа митотически делящихся гепатоцитов, приводящее к снижению их плоидности. Эти изменения приводят к значительному нарушению пластических процессов в печеночной ткани. В условиях 100-суточной гипокинезии интенсивность включения ^{14}C-лейцина в белки гепатоцитов составила 32,7% ($P<0,001$), в то время как при 30-суточной ГК — 66,1% ($P<0,001$), а при 5-суточной — 91,9% ($P<0,05$).

Исследование влияния 5-, 30- и 100-суточной ГК на течение репаративных процессов в печени

5-суточная гипокинезия. Исследования интенсивности включения импульсной метки ^{3}H-тимидина в гепатоциты оперированных крыс позволили проследить в динамике формирование пула пролиферирующих клеток. У частично гепатэктомированных животных на фоне 5-суточной гипокинезии снижение объема ДНК-синтезирующих гепатоцитов наблюдается только к 12 часу эксперимента. В последующие сроки исследования существенных изменений по

данному показателю отмечено не было. Не противоречит этому и исследование интенсивности мечения ядер: к 12 часу эксперимента ИМЯ в контрольной группе составила 13,84 ± 1,36, в опытной — 8,04 ± 0,70 (P<0,01), к 24 часу интенсивность мечения в группе практически не изменилась, в опытной достигла 10,94 ± 1,08, к 36 часу показатели опытной группы приблизились к контрольным.

Результаты определения плоидности гепатоцитов приведены в *табл. 1*. Как показывает анализ полученных данных, к 24 часу репаративного восстановления наблюдается снижение ДНК-синтезирующей популяции тетраплоидных клеток (4с-8с) и наращивание клеток плоидностью (2с-4с). Во все исследуемые сроки репаративного восстановления зарегистрировано снижение популяции высокоплоидных клеток. Так, к 24 часу в паренхиме печени отсутствуют окта- и существенно снижено количество тетраплоидных клеток. К 36 часу выявленный эффект торможения полиплоидизации сохраняется. Снижение количества тетраплоидных клеток составляет 19,09%, октаплоидных — 46,67%. При этом следует отметить, что популяция ДНК-синтезирующих клеток (2с-4с) и (4с-8с) была выше показателей контрольной группы на 37,1%, что, вероятно, можно рассматривать как компенсаторное наращивание пролиферативной реакции гепатоцитов. Однако к 5-м суткам популяция высокоплоидных клеток по-прежнему уступает контрольным величинам: тетраплоидные клетки составили 66,07% от контрольного уровня (P<0,001), популяция 16П снижена на 19,35%. Соответственно наблюдалось накопление диплоидных гепатоцитов, которые составили 130,72% (P<0,001).

Гистохимическое определение содержания цитоплазматической РНК в гепатоцитах частично гепатэктомированных животных показывает, что процессы пролиферации как у иммобилизованных, так и контрольных животных реализуется на фоне повышенного синтеза РНК. Так, уже к 12 часу восстановления наблюдается подъем содержания РНК относительно уровня неоперированной печени на 22% (P<0,001) для контрольной группы. В дальнейшем высокий уровень РНК наблюдался вплоть до 5-х суток исследования.

30-суточная гипокинезия. Анализ показателей индекса меченых ядер у частично гепатэктомированных животных позволил выявить, что на все исследуемые сроки количество ДНК-синтезирующих гепатоцитов было ниже контрольного уровня. Однако

Таблица 1

Распределение ядер гепатоцитов по плоидности у частично гепатэктомированных животных, находящихся в условиях гипокинезии различной степени длительности

Время после операции	Сроки ГК (сутки)	Плоидность					
		2С	2С-4С	4С	4С-8С	8С	16С
24 ч.	5	*50,00±2,27 (+28,21)	7,60±0,58 (+17,33)	*31,60±1,31 (-14,59)	0,70±0,22 (-90,77)	-	-
	30	*55,40±1,35 (+49,33)	*17,00±0,91 (-24,78)	*25,20±1,05 (-16,00)	2,40±0,87 (-73,91)	-	-
	100	*54,00±2,25 (+54,76)	17,50±1,02 (-18,60)	*24,00±1,74 (-30,43)	*3,50±0,44 (-65,00)	1,00±0,38 (-75,00)	-
36 ч.	5	52,10±1,45 (+5,05)	18,00±0,74 (-12,30)	19,50±1,35 (-19,09)	9,60±0,12 (-46,67)	0,80±0,12 (-46,67)	-
	30	*58,70±1,81 (58,65)	12,00±0,93 (+5,60)	*25,00±0,89 (-19,35)	*3,00М0,35 (-73,21)	0,40±0,09 (-95,40)	-
	100	*47,00±2,26 (+73,43)	*15,50±1,27 (+31,36)	*30,50±3,14 (-27,38)	*1,50±0,27 (-83,33)	*5,50±0,42 (-31,25)	-
120 ч.	5	*40,00±1,04 (+30,72)	4,80±0,34 (-20,00)	41,90±1,06 (-5,42)	0,35±0,23 (-65,00)	10,30±0,59 (-33,97)	2,50±0,35 (-19,35)
	30	*51,60±1,78 (+56,36)	*5,00±0,65 (-45,65)	*31,90±1,71 (-18,20)	0,70±0,12 (+40,00)	*9,30±1,10 (-37,16)	1,20±0,25 (66,67)
	100	*48,80±2,62 (+60,70)	2,50±0,35 (+25,00)	*37,70±1,49 (-18,22)	*1,60±0,29 (-64Ю44)	*11,50±1,27 (-31,96)	0,30±0,79 (-55,00)

Примечания: 1) в скобках дано процентное выражение относительно контрольной группы;
2) звездочками помечена достоверность относительно контрольной группы животных.

статистически достоверное снижение было зарегистрировано только на два срока — 12-й и 24-й час — и составило от контроля 67,77% (P<0,05) и 76,70% (P<0,001) соответственно. Полученные данные согласуются с результатами определения пролиферирующего пула. Установлено, что пролиферативный пул гепатоцитов у опытных животных существенно снижен на протяжении 24 часов после операции, которые, как известно, являются критическими в условиях репаративного восстановления. И только к 36 часу эксперимента ИМЯ в опытной и контрольной группах были близки по значению, а объем пролиферативного пула в группе иммобилизованных животных даже несколько превышал контрольные показатели.

Первоначальное снижение объема пролиферативного пула оказало влияние на режим митотического деления. Так, в контрольной группе животных митотически делящиеся клетки были зарегистрированы к 1-м суткам эксперимента. У иммобилизованных животных на этот срок митозов не было. К 36 часу митотически делящиеся клетки были установлены как в опытной, так и контрольной группах. Однако по абсолютной величине митотический индекс в опытной группе животных составил 29,56% и был ниже контрольных показателей на 27,03% (P<0,001). К 5-м суткам восстановления митотическое деление более активно протекало у иммобилизованных животных, однако различия между величинами митозов опытной и контрольной групп были недостоверными.

Исследование плотности гепатоцитов у частично гепатэктомированных гипокинетических животных показывает, что ограничение подвижности в течение 30 дней вызывает первоначальное торможение вступления гепатоцитов в S-период. Так, к 24 часу количество ДНК-синтезирующих гепатоцитов (2С-4С) и (4С-8С) составило 75,2 и 26,2% от контроля соответственно. Наиболее выраженное снижение популяции тетраплоидных ДНК-синтезирующих клеток, вероятно, обусловлено, во-первых, предварительным снижением популяции тетраплоидных клеток при воздействии на организм предварительной 30-суточной ГК, во-вторых, возможно, тетраплоидные гепатоциты, обладающие повышенной функциональной мощностью, задерживаются в пресинтетическом периоде, выполняя функциональные нагрузки. Торможение синтеза ДНК в гепатоцитах тетраплоидной фракции оказывает отрицательное влияние на процесс поли-

плоидизации. Как показали результаты исследования, количество высокоплоидных клеток как к 36 часу, так и к 5-м суткам было существенно ниже контрольного уровня.

В соответствии с результатом определения плоидности гепатоцитов находятся данные морфометрических параметров. Установлено, что к концу первых суток восстановления в группе иммобилизованных животных значительно замедляются процессы роста ядер, средняя площадь составляет 73,5% ($P<0,01$) от контрольных показателей. Последнее, вероятно, можно рассматривать как следствие снижения в условиях гипокинезии популяции клеток с полиплоидными ядрами. Значительное отставание роста цитоплазмы, зарегистрированное к 5-м суткам, возможно, следует рассматривать как показатель снижения пластических процессов в цитоплазме гепатоцитов иммобилизованных животных и торможения гипертрофии клеток.

Интенсивность включения ^{14}C-лейцина в гепатоциты регенерирующей печени в условиях 30-суточной ГК снижена. Торможение включения метки было статистически достоверным к 12 часу, и уровень меченого лейцина составил 82,14% от контрольного уровня. Наиболее выраженное снижение показателя было отмечено к 36 часу, когда процент включения лейцина составил 61,91% ($P<0,001$).

Полученные результаты коррелируют с данными определения цитоплазматической РНК. В начальный период восстановления (12-й час после частичной гепатэктомии содержание РНК было ниже показателей контрольной группы на 19,52% ($P<0,01$), а к 36 часу снижение составило 32,78% ($P<0,001$).

100-суточная гипокинезия. Результаты исследования пролиферативных способностей гепатоцитов в условиях 100-суточной гипокинезии показывают, что снижение объема ДНК-синтезирующих гепатоцитов, выявленное у гепатэктомированных животных на фоне 30-суточной ГК, при более длительном обездвижении усугубляется. Индекс меченых ядер у частично гепатэктомированных иммобилизованных животных относительно контрольных показателей составил к 12 часу эксперимента 43,74% ($P<0,001$), к 24 часу — 77,09% ($P<0,001$), к 36 часу — 68,20% ($P<0,001$), к 5 суткам — 15,28% ($P<0,001$). Пролиферативный пул в группе иммобилизованных животных во все сроки исследования после частичной резекции печени был значительно ниже показателей контрольной группы.

Максимальное снижение его зарегистрировано к 12 часу восстановления (35,73% от контрольного уровня, P<0,001), что свидетельствует о низких пролиферативных потенциях гепатоцитов. К 24 часу количество пролиферирующих клеток как в опытной, так и в контрольной группах увеличивается. Однако по абсолютным величинам показатели опытной группы были значительно ниже контрольной и составили от последних 63,03% (P<0,001). Сравнительный анализ показателей пролиферативного пула у опытных животных, выраженный в процентах по отношению к контрольным показателям, в условиях 30- и 100-суточной гипокинезии позволяет отметить, что в условиях 100-суточной гипокинезии наблюдается более глубокое снижение пула во все исследуемые сроки (*рис. 1*). Кроме того, следует отметить, что если в условиях 30-суточной ГК к 36 часу восстановления наблюдается увеличение показателя, которое, вероятно, можно рассматривать как компенсаторную реакцию, развивающуюся в ответ на первоначальное ограничение формирования пула, то в

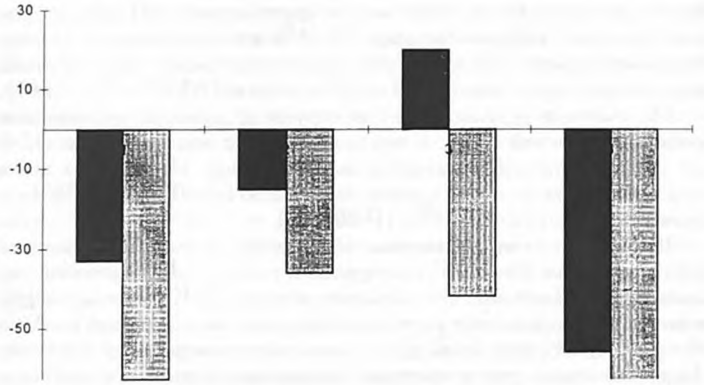

Рис. 1. Пролиферативный пул у частично гепатэктомированных животных, находящихся в условиях предварительной 30-, 100-суточной гипокинезии

Ряд 1 — 30-суточная ГК

Ряд 2 — 100-суточная ГК

условиях 100-суточной гипокинезии снижение его прогрессирует вплоть до 5-х суток восстановления.

При сопоставлении данных, отражающих митотическую активность у частично гепатэктомированных животных на фоне 30- и 100-суточной ГК, установлено, что на первые три срока в обеих экспериментальных группах динамика показаний однотипна и заключается в полном торможении митотического деления к 24 часу с последующим подъемом активности. Однако по абсолютным величинам число митотически делящихся клеток к 36 часу в условиях 100-суточной ГК было снижено относительно контрольных показателей на 41,65% ($P<0,001$), в то время как на фоне 30-суточной ГК снижение к этому сроку составило 27,03% ($P<0,01$). К 5-м суткам восстановления в условиях 100-суточной иммобилизации наблюдается дальнейшее снижение показателя (процент изменения по отношению к контрольной группе составил 64,57% ($P<0,051$), в то время как в условиях 30-суточной ГК отмечено усиление митотической пролиферации).

Резкое снижение митотической активности в условиях 100-суточной гипокинезии обусловлено, как было показано выше, снижением объема пролиферативного пула, и изменением продолжительности G_2-периода митотического цикла. Общая продолжительность митотического цикла в условиях гипокинезии составляет 162,63% ($P<0,001$) от контрольного уровня. Значительные изменения претерпела длительность премитотического периода и составила от контрольного уровня 251,28% ($P<0,001$). Процессы синтеза ДНК и пресинтетической подготовки также проходили замедленными темпами, отмечено увеличение продолжительности G_1-периода на 54,89% ($P<0,001$), синтетический период составил 149,05% ($P<0,01$) от контрольного уровня.

Процесс полиплоидизации гепатоцитов в условиях репаративного восстановления на фоне 100-суточного обездвиживания характеризуется более выраженным снижением популяции тетраплоидных клеток к 24 часу эксперимента. Число 4n-клеток в регенерирующей печени составило 69,75% ($p<0,01$), к 36 часу тетраплоидные клетки снижены на 27,38% ($P<0,01$), октаплоидные на 31,25% ($P<0,01$), популяция клеток 16П в опытной группе не зарегистрирована. Что касается характеристики ДНК-синтезирующей популяции, то можно отметить, что через 24 часа после частичной гепатэктомии количество клеток (2С-4С) и (4С-8С) было значительно ниже контрольных

величин. К 36 часу популяция ДНК-синтезирующих (2С-4С) увеличивается, в то время как группа клеток плоидностью (4С-8С) составила от контроля 16,7% ($P<0,001$). По всей вероятности, в регенерирующей печени на фоне 100-суточной гипокинезии предпочтительнее идут процессы дедифференцировки диплоидных клеток и последующего их вступления в синтетический период интерфазы. 5-е сутки восстановления характеризуются статистически достоверным снижением количества тетра- и октаплоидных клеток.

Исследование белкового синтеза в регенерирующей печени в условиях 100-суточной гипокинезии свидетельствует о снижении включения ^{14}C-лейцина в гепатоциты во все исследуемые сроки. Разница между величинами опытной и контрольной групп была статистически достоверна. Сравнительный анализ данных, характеризующих интенсивность включения лейцина в условиях 30- и 100-суточной ГК, показал, что пластические процессы испытывают отрицательное воздействие фактора гипокинезии в обоих вариантах опыта, степень выраженности нарушения более значительна в условиях длительной иммобилизации.

Таким образом, проведенные исследования дают основание для заключения, что действие гипокинезии вызывает снижение интенсивности процессов репаративной регенерации, характер и степень выраженности нарушений определяется длительностью фактора.

На основании полученных данных, а также использованных данных литературы механизм нарушения регенерации гепатоцитов при воздействии гипокинезии можно представить в виде следующей схемы (*рис. 2*).

Выводы

1. Действие гипокинезии на организм сопровождается изменением пластического обмена и пролиферативных способностей гепатоцитов, характер и степень нарушений которых определяется длительностью воздействия экстремального фактора.

2. Содержание экспериментальных животных в условиях гипокинезии, сопровождающееся накоплением популяции диплоидных клеток и снижением суммарного генома печени, нарушает процессы полиплоидизации в условиях индуцированной пострезекционной

Рис. 2. Схема нарушения процессов регенерации гепатоцитов при воздействии длительной гипокинезии

регенерации, что существенно удлиняет темпы восстановления регенерирующего органа.

3. Гипокинезия длительностью 5-10 суток замедляет процесс дедифференцировки тетраплоидных клеток в регенерирующей печени, что обусловливает снижение количества ДНК-синтезирующих гепатоцитов и тормозит регенерацию печени.

4. При 30-суточной гипокинезии репаративные процессы протекают на фоне снижения белкового синтеза и характеризуются торможением процесса дедифференцировки как тетраплоидных, так и диплоидных гепатоцитов, снижением пролиферативного пула, что

нарушает режим митотического деления и процессы полиплоидизации гепатоцитов.

5. В условиях 100-суточной гипокинезии процесс нарушения дедифференцировки гепатоцитов усиливается, значительно снижается объем пролиферативного пула. При этом увеличение продолжительности S- и G_2-периодов митотического цикла обусловливает прогрессивное снижение митозов и влияет на процессы полиплоидизации регенерирующей печени.

Литература

1. *Бродский В.Я., Милютина Н.А., Фактор В.М., Урываева И.В.* Исследование синтеза ДНК и митозов в регенерирующей печени мышц для выявления G_2-популяции гепатоцитов // Докл. АН СССР, 1969. Т. 189. — С. 639-642.

2. *Бродский В.Я., Урываева И.В.* Клеточная полиплоидия. Пролиферация и дифференцировка. М., Наука, 1981. — 257 с.

3. *Вакулин Г.М., Якобсон Г.С.* Ультраструктурные изменения паренхиматозных клеток печени, сердечной и поперечнополосатой мышц крыс при гиподинамии // Адаптация организма человека и животных к экстремальным природным факторам среды: Материалы симпозиума 12-17 октября, 1970. — Новосибирск, 1970. Т. 5. — С. 36-39.

4. *Кириллов О.И.* Процессы клеточного обновления и роста в условиях стресса. М., Наука, 1977. — 117 с.

5. *Коваленко Е.А.* Патофизиологические аспекты проблемы длительной гипокинезии // Пат. физиология. 1975. — № 3. — С. 11-24.

6. *Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н.* Гипокинезия. М.: Медицина, 1980. — С. 319.

7. *Крупина Т.Н., Тизул А.Я.* Изменения нервной системы при 120-суточной клиностатической гипокинезии и профилактика гипокинезических расстройств // Журнал невропатологии и психиатрии им. Корсакова, 1971. Т. 71. — № 11. — С. 1611-1617.

8. *Лобзин В.С., Михайленко А.А., Панов А.Г.* Клиническая нейрофизиология и патология гипокинезии. Л.: Медицина, 1979. — 214 с.

9. *Павлов А.В.* Характеристика клеточного состава печени крыс и кроликов в ходе репаративной регенерации после некоторых экстремаль-

ных воздействий. // Регуляция и функционирование биологических систем. М., 1980. — С. 92-94.

10. *Парин В.В., Баевский Р.М.* Основные принципы моделирования в космической медицине // Моделирование в биологии и медицине. Л., 1969. — С. 65-73.

11. *Португалов В.В., Рохленко К.Д. Савик З.Ф.* Изменения камбаловидной (красной) мышцы при понижении функции // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии, 1975. Т. 65. — № 2. — С. 11-18.

12. *Рябина З.А., Будик В.М., Лисневская В.А.* Изучение синтеза ДНК, митотической активности и гипертрофии клеток в регенерирующей печени и неповрежденной селезенке крыс при введении азитиоприна // Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1974. Т. 78. — № 11. — С. 102-104.

13. *Северин М.В., Юшков Б.Г., Ястребов А.П.* Регенерация тканей при экстремальных воздействиях на организм. Екатеринбург, УрГМА, 1993. 186 с.

14. *Урываева И.В., Фактор В.М.* Блокирование процессов митотического цикла в пролиферирующих гепатоцитах мыши, вызванное состоянием стресса // Цитология, 1974. Т. 16. — № 9. — С. 1100-1105.

15. *Федоров И.В.* Обмен веществ при гиподинамии // М.: Наука, 1982. 254 с.

16. *Хачатуров Е.Н., Смирнова Е.А.* Применение риванола — SO_2 для цитофлуориметрии ДНК // Известия АН СССР, 1966. — № 6. — С. 900-905.

17. *Цвиренко С.В., Макеев О.Г., Мещанинов В.Н., Савельев Л.И.* Некоторые механизмы регенерации тканей при экстремальных состояниях // Механизмы аварийного регулирования и адаптации при действии на организм экстремальных факторов / Под ред. А.П. Ястребова. Свердловск, 1984. — С. 12-20.

18. *Ястребов А.П.* Характеристика метаболической регуляции репаративных процессов в тканях при воздействии на организм экстремальных факторов // Механизмы аварийного регулирования и адаптации при действии на организм экстремальных факторов. Свердловск, 1984. — С. 5-11.

19. *Brooks R.F.* Continuous protein synthesis is required to maintain the probabiliti of entry into S phase // Cell, 1977, V. 12. P. 311-317.

20. *Champion H.R., Raymond T.J., Trump B.F., Decker R., Wilson S., Miginski M., Gill W.* A clinicopathologic studi of hepatic dysfunction followin shock // Surg. Gynec. Obstet., 1976, V. 142. № 5. P. 657-663.

21. *Higgins G.H., Anderson R.M.* Experimental pathologi of the liver. 1. Restoration of the liver following partial surgical removel // Arch. pathol. 1931. V. 12. P.186-202.

22. *Lasselain M.J., Pareyre C., Deysson C.* Contribution to the understanding of the mechanism of cytokinesis in plant cells: the action of deoxyguanosine on the kinetics of a root meristem cell population // Cell and Tiss. Kinet. 1967, V. 11. P. 519-527.

23. *Wilson J.T., Frohman J.A.* Concomitant association between high plasma levels of growth hormone and low hepatic mixed function oxidase activity in the young rat // J. Pharmacol. and Exp. Ther. 1974. V. 189. P.255-270.