

**ЦВИРЕНКО
Сергей
Васильевич**

*Заведующий кафедрой лабораторной
диагностики ФУВ УГМА,
доктор медицинских наук, профессор*

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ МЕТАБОЛИЗМ И СОСТОЯНИЕ РЕГЕНЕРАТОРНЫХ ПРОЦЕССОВ В ТКАНЯХ

Известно, что появление в арсенале исследователей новых, более совершенных методов в значительной мере определяет развитие знаний, а нередко и прорыв в решении актуальных проблем. Пионером освоения и применения полярографического метода для изучения транспорта и метаболизма кислорода в тканях на Урале является А.П. Ястребов. В конце 60-х — начале 70-х годов им были получены принципиально новые сведения о состоянии окислительного метаболизма в кроветворной ткани при действии на организм различных видов гипоксии [26, 27]. Возникло основание подойти на новом методическом и методологическом уровне к проблеме связи энергетических и пластических процессов в ткани, проблеме, очень важной и в теоретическом, и в прикладном аспектах, к которой неоднократно обращались исследователи, но которая продолжала оставаться далеко не решенной. Работы в этом направлении служили развитию концепции о метаболической регуляции регенераторных процессов при экстремальных воздействиях на организм, сформулированной А.П. Ястребовым. Исследования окислительного энергетического метаболизма занимали значительное место в работе межведомственной лаборатории «Проблем адаптации человека и животных к экстремальным и антропогенным факторам внешней среды», основанной в 1985 г. на базе Свердловского медицинского института и Института экологии животных и растений Уральского научного центра АН СССР и руководимой профессором А.П. Ястребовым. Сотни научных публикаций, монографии, разработка целого ряда фундаментальных и прикладных, практических проблем — вот сегодняшний результат новаторского подхода в выборе

и творческого развития исследовательского арсенала, заложенных нашим учителем, по существу, в самом начале научного пути.

Регенераторные процессы в тканях безусловно являются одним из фундаментальных проявлений жизнедеятельности организма. Обновление стареющих тканевых и клеточных структур, клеток в условиях нормального функционирования, адаптивное их увеличение при повышенной функциональной нагрузке, в том числе в изменяющихся условиях внешней среды, репарация при повреждениях — все это во многом определяет резистентность организма и его способность приспосабливаться [13, 14, 18, 21].

Полноценное и адекватное протекание регенераторных процессов требует соответствующего энергообеспечения. В общем виде это положение не вызывает сомнения. Однако в литературе имеется пестрый спектр представлений о характере и специфике перестройки энергетического метаболизма в тканях при стимуляции регенераторных процессов [16]. При этом отсутствие значительных изменений показателей дыхания и гликолиза можно рассматривать как свидетельство перераспределения потока макроэргов между конкурирующими потребителями — биосинтезы и функции, а следовательно как отсутствие напряжения тканевого энергетического аппарата. Напротив, наблюдаемые в ряде исследований признаки значительной активации энергетического метаболизма дают основание для предположения, что интенсивность регенераторных процессов лимитируется возможностями энергетического аппарата. Не получил окончательного решения и вопрос о преимущественном пути извлечения энергии (аэробный или анаэробный) для обеспечения регенерации [1].

С методологической точки зрения, выяснение характера взаимосвязи энергетических и пластических регенераторных процессов представляет собой сложную задачу. Прежде всего, для каждой ткани, органа характерно своеобразное сочетание стандартных компонентов регенерации — пролиферация, гипертрофия клеток, полиплоидизация, а также определенная интенсивность этих процессов. Даже в тканях с очень высокой скоростью регенерации указанные процессы развиваются не во всех клетках, и лишь в определенных условиях, например при массивном удалении ткани, можно говорить об относительно высокой степени их синхронизации. Кроме того, готовясь к делению или полиплоидизирующему митозу, клетки проходят суще-

ственно отличающиеся в метаболическом отношении периоды (фазы клеточного цикла) [1, 5, 29]. В связи с этим при проведении исследования и интерпретации результатов необходим учет тканевой гетерогенности и динамического аспекта.

В наших исследованиях взаимосвязи энергетических и пластических процессов, выполненных под руководством А.П. Ястребова [23, 24], внимание было сконцентрировано на параллельной регистрации интенсивности и особенностей тканевого дыхания и компонентов регенераторного ответа в двух типах ткани: обновляющейся, где основным компонентом регенерации является пролиферация клеток, на примере костного мозга, и растущей, где представлены пролиферация, гипертрофия и полиплоидизация, на примере печени. Выбор указанных тканей как объекта исследований обусловлен и тем, что обе они играют важнейшую роль в обеспечении резистентности и адаптации организма. Мы полагали, что характер взаимосвязи энергетики и регенерации особенно рельефно должен проявляться при экстремальных воздействиях на организм. Исследования в данном направлении не только вскрывают общепатологические закономерности повреждения и адаптации, но и обосновывают подходы для эффективной, патогенетически обоснованной коррекции тканевых нарушений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на крысах линии Вистар, белых беспородных крысах массой 150–250 г. Индуцированную регенерацию в печени вызывали удалением $2/3$ массы органа — частичной гепатэктомии по Higgins, Anderson (ЧГЭ), в костном мозге — путем выполнения кровопускания (острая кровопотеря) из яремной вены в количестве 2% от массы животного.

О характере и интенсивности окислительных энергетических процессов в тканях судили по показателям дыхания гомогената и выделенных митохондрий печени и клеток костного мозга. Скорость потребления кислорода препаратами измеряли полярографическим методом в ячейке с закрытым платиновым электродом типа Кларка [6]. Использовались различные функциональные пробы и ингибиторы участков дыхательной цепи [9, 12]. Оценивали дыхание на эндо-

генных субстратах ($V_{\text{энд}}$), в присутствии 4 мМ сукцината ($V_{\text{як}}$), на сукцинате в присутствии АДФ ($V_{\text{э}}$), в отрегулированном состоянии (V_4), на НАД-зависимых субстратах (7 мМ оксibuтирата или 7 мМ глутамата), в присутствии разобшителя дыхания и фосфорилирования — 100 мкМ 2,4-динитрофенола (ДНФ). Проводили ингибиторный анализ дыхания препаратов на эндогенных субстратах в присутствии разобшителя с помощью малоната (2 мМ) и амитала (1 мМ) с последующим вычислением доли и абсолютной величины малонат-чувствительного (МЧ), амитал-чувствительного (АЧ) и амитал-малонат-резистентного (АМР) дыхания. Скорость дыхания выражали в нано-атомах кислорода в мин на мг белка или на 1 млн миелокариоцитов.

Для оценки регенераторных процессов в костном мозге определяли гематологические показатели периферической крови, клеточность костного мозга, миелограмму. Высчитывали относительные показатели, в том числе количество клеток, способных к пролиферации. ДНК-синтезирующую способность миелокариоцитов определяли радиоавтографическим методом с использованием ^3H -тимидина. Препарат (5-метил- ^3H -тимидин, удельная активность 890 Тбк/моль) вводили животным внутрибрюшинно в дозе 1 мккюри (37 Кбк) на 1 г массы за 1,5 ч до забоя. Интенсивность синтеза ДНК оценивали по включению ^3H -тимидина в ДНК миелокариоцитов, измеряемому с помощью жидкостной сцинтилляционной радиометрии на счетчике СБС-2.

Для оценки регенераторных процессов в печени на гистологических препаратах определяли митотический индекс, индекс аalterации, количество двуядерных клеток с использованием окулярной измерительной сетки Автандилова. В ядрах изолированных гепатоцитов цитофлуориметрическим методом [7] на комплексе ЛЮ-МАМ И-3 (ЛОМО) измеряли количество ДНК с последующим распределением клеток по плоидности и фазам клеточного цикла. С помощью радиоавтографического метода с ^3H -тимидином определяли количество гепатоцитов в S-фазе. В печени измеряли содержание нуклеиновых кислот после их разделения по Schmidt, Thannhauser спектрофотометрическим методом. Определяли интенсивность включения ^3H -тимидина в ДНК. Регистрировали абсолютную и относительную массы органа, а также процентное содержание в ткани сухого вещества.

Холодовое воздействие на животных осуществляли в термокамере «VT-1000» (Германия) по 23 ч в сутки при температуре 0°C.

Смесь сукцината и глутамата по 100 и 50 мг на кг массы соответственно ($pH=7,3-7,4$), или только сукцинат в такой же дозе, вводилась животным подкожно.

Статистическую обработку результатов исследований проводили по общепринятым методикам [25].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Кровопотеря вызывала выраженную стимуляцию регенераторных процессов в костном мозге, что проявлялось увеличением ретикулеза в периферической крови. Значительно увеличивалось включение 3H -тимидина в ДНК миелокариоцитов в расчете на бедро. В течение первых 7 суток после операции при практически неизменном количестве ядросодержащих элементов в КМ постепенно уменьшается гранулоцитарный росток, преходящее уменьшение наблюдается со стороны лимфоидного ростка и увеличение абсолютного и особенно относительного (доля от всех клеток) размера эритроидного. Среди эритрокариоцитов несколько увеличивается пул клеток, способных к пролиферации, а также активируется их вступление в репродуктивный цикл. В результате количество и доля клеток эритроидного ряда, участвующих в пролиферации, возрастает. В гранулоцитарном ростке пролиферативная активность, напротив, падает, в лимфоидном — несколько увеличивается к концу первой недели постгеморрагического периода. В целом в КМ пролиферативная активность (количество клеток, синтезирующих ДНК, и их доля от всех ядросодержащих элементов КМ) повышается. По-видимому, ускоряется и созревание клеток, о чем можно судить по некоторому снижению индекса созревания эритробластов.

Кровопотеря приводит к значительной стимуляции дыхания миелокариоцитов как на эндогенных ($V_{энд}$), так и на добавленных к суспензии субстратах ($V_{як}$ и $V_{г+м}$) (табл. 1). При этом наибольшая скорость дыхания регистрируется через 1 сутки после операции. В дальнейшем она снижается через 3 и еще больше через 5 суток, оставаясь выше уровня у неоперированных животных.

Таблица 1

**Дыхание клеток костного мозга крыс
в динамике постгеморрагического периода
(на O_2 / 10^6 клеток/мин) $M \pm m$ (n=6)**

Показатель	Срок после кровопускания, сутки			
	1	3	5	7
Vэнд	4,88±0,38 +117,9% *	3,96±0,23 +76,8% *	2,97±0,15 +32,6% *	3,65±0,24 +62,9% *
Vяк	6,13±0,64 +163,1% *	4,65±0,67 +99,6% *	3,58±0,29 +53,6% *	4,61±0,40 +97,9% *
СД як	1,29±0,10	1,20±0,08	1,28±0,08	1,29±0,12
Vднф як	7,03±0,74 +78,4% *	5,34±0,56 +35,5% *	4,62±0,43 +17,3%	5,40±0,57 +37,1% *
Vг+м	7,14±0,63 +308,0% *	4,81±0,49 +174,9% *	4,20±0,32 +140,0% *	4,04±0,45 +130,9% *

Примечание: * достоверные отличия при сравнении с контрольными животными.

Через 7 суток после кровопускания дыхание клеток снова увеличивается (V энд и V як). Во все сроки увеличивается стимулирующее действие (СД) субстратов, особенно глутамата и малата, что свидетельствует об активации клеток и облегчении транспорта метаболитов в клетки. Скорость разобщенного дыхания клеток, отражающая предельные возможности окислительных систем миеокардиоцитов, изменяется таким же образом. Значительное снижение СД разобщителя отражает не столько разобщение дыхания и фосфорилирования в клетках, сколько значительную активацию энергообмена в клетках и реализацию части функционального резерва их энергетического аппарата.

Особый интерес представляют результаты ингибиторного анализа дыхания клеток на эндогенных субстратах (табл. 2). Их общий фонд, о величине которого можно судить по Vднф, не претерпевает значительных изменений в постгеморрагическом периоде.

Отмечается лишь тенденция его сокращения через 5 и 7 суток после кровопускания. Во все исследованные сроки наблюдается значительное снижение величины и доли АЧ, т.е. фонда НАД-зависимых субстратов и повышение величины и доли АМР, т.е. окисления липидов. Содержание эндогенного сукцината (МЧ) не отличается от контрольного уровня через 1 и 3 суток, заметно падает через 5 суток, и эта тенденция сохраняется и через 7 суток после операции. Относительный вклад сукцината в окислительный метаболизм миелокариоцитов (%МЧ) остается неизменным.

Таким образом, стимуляция регенерации кроветворной ткани путем кровопускания сопровождается активацией окислительных процессов в клетках КМ, усилением окисления липидов, ограничением фонда и использования НАД-зависимых субстратов при маломеняющемся содержании сукцината.

Активация окислительных процессов в КМ отмечалась ранее и другими авторами при постгеморрагической анемии через 20 ч после кровопотери, через 3, 4, 5 суток [2, 4, 15, 28]. Причем усиление окислительных процессов показано не только на тканевых препаратах при измерении *in vitro*, но и при определении потребления кислорода в ткани *in vivo*. Оно сопровождается увеличением митохондриального белка в КМ, что обнаружено на 4–5-й день после кровопотери [2]. Не вызывает сомнения и усиление липолиза при возмущении гемопозеза [27], тем более что и в нормальном состоянии липиды являются едва ли не основным энергетическим субстратом в КМ [22].

Прямое определение с помощью энзиматических методов содержания субстратов окислительного метаболизма в клетках КМ показало их фазные изменения в динамике постгеморрагического периода [11]. При этом через 24, 48 ч содержание некоторых НАД-зависимых субстратов падает (а-кетоглутарат, пируват) примерно на 30—40%, а некоторых повышается (малат, глутамат) — на 20—40%. Количество сукцината снижено в первые часы и увеличено через 24 и особенно 48 ч.

Обращает на себя внимание, что наибольшая активность дыхания наблюдается через 1 сутки после стимула. Вместе с тем пик регенераторных процессов в КМ отмечается позднее, примерно через 5 суток. Учитывая это, можно предположить, что резкая стимуляция окислительного метаболизма в миелокариоцитах в ранние сроки

Таблица 2

**Ингибиторный анализ дыхания клеток костного
мозга крыс на эндогенных субстратах в динамике
постгеморрагического периода**

Показатель	Срок после кровопускания, сутки			
	1	3	5	7
ВднФ	4,08±0,35 +10%	3,47±0,39 -6,2%	2,76±0,25 -25,4%	2,91±0,24 -21,4%
МЧ	0,59±0,10 -10,6%	0,60±0,07 -9,1%	0,38±0,08 -42,4%	0,46±0,08 -30,3%
% МЧ	14,3±3,8 -9,5%	17,9±2,5 +13,3%	13,7±2,0 -13,3%	15,6±1,9 -1,3%
АЧ	1,30±0,14 -51,7% *	1,35±0,09 -49,8% *	0,91±0,08 -66,2% *	0,95±0,18 -64,7% *
% АЧ	32,0±2,3 -56,0% *	40,2±3,3 -44,7% *	33,3±2,4 -54,2% *	32,1±4,9 -55,9% *
АМР	2,19±0,21 +277,6% *	1,52±0,37 +162,1% *	1,47±0,18 +153,5% *	1,50±0,12 +158,6% *
% АМР	53,6±2,1 +250,3% *	41,9±4,9 +173,9% *	53,0±3,3 +246,4% *	52,4±4,2 +242,5% *

Примечание: * достоверные отличия при сравнении с контрольными животными.

обусловлена не только их потребностями в энергопродукции для обеспечения текущих пластических процессов, но и действием внешних для КМ факторов, например стрессовых гормонов и других гуморальных регуляторов. В связи с этим уместно отметить, что эритропоэтин, содержание которого в крови максимально через 1 сутки после кровопускания [17], способен значительно стимулировать окислительные, а также липолитические процессы в КМ как при введении животным, так и при непосредственном действии на митохондрии *in vitro* [28]. За счет одновременного действия и на

пролиферативный и на энергетический аппарат, по-видимому, обеспечивается «опережающая» активация последнего с целью создания оптимальных условий для запуска регенераторной реакции кроветворной ткани.

Таким образом, стимуляция регенераторных процессов в КМ при кровопотере тесно связана с изменениями функционального состояния энергетического аппарата миелокариоцитов, носящем стадийный характер.

Заметное изменение регенераторных процессов в КМ вызывает холодовое воздействие — содержание крыс при 0°C по 23 часа в сутки. Через 3 и 7 суток в КМ увеличивается как абсолютное, так и относительное количество клеток, синтезирующих ДНК. Суммарное включение ³H-тимидина в ДНК клеток КМ в пересчете на бедро возрастает в этот период на 64,0% ($P < 0,05$) и на 39,4% ($P < 0,05$). Примечательно, что пересчет активности включенной в ДНК метки на миелокарициты, находящиеся в S-фазе, демонстрирует увеличение этого показателя, особенно в более поздние сроки исследования (7 и 14 суток). Последнее свидетельствует об увеличении скорости синтеза ДНК в индуцированных клетках и косвенно отражает укорочение S-фазы для пролиферирующих миелокариоцитов в этих условиях.

Через 7 суток воздействия в КМ отмечается достоверное, почти двукратное, увеличение общего количества митозов. Суммарное количество миелокариоцитов в КМ в течение 2 недель холодового воздействия не изменяется. Вместе с тем количество клеток гранулоцитарного ряда и их доля среди всех миелокариоцитов уменьшается уже к 3 суткам воздействия, оставаясь в последующем на постоянном уровне. При этом почти в 3 раза снижается количество ДНК синтезирующих клеток этого ряда и их доля в ростке. Абсолютное и относительное содержание лимфоидных клеток через 3 суток не отличается от контроля, заметно возрастает через 7 суток, оставаясь на том же уровне и через 14 суток воздействия. В исследованные сроки наблюдается тенденция увеличения количества лимфоидных клеток, находящихся в S-фазе, но процент их в ростке остается неизменным. Сдвиги со стороны эритроидного ростка более динамичны. Количество эритрокариоцитов значительно увеличивается через 3 суток (+39,6%; $P < 0,05$), почти достигает контрольного уровня через 7 суток (+12,5%; $P > 0,05$) и снова увеличивается через

14 суток охлаждения ($+23,8\%$; $P<0,1$). Аналогичны изменения относительной величины эритроидного ростка. Количество ранних эритроидных предшественников, способных к синтезу ДНК, возрастает в 2 раза к 3 суткам и в дальнейшем постепенно падает. При этом если абсолютное содержание этих клеток к 14 суткам не отличается от контроля, то относительное — снижается ($-23,7\%$; $P<0,05$). Эритрокариоциты, находящиеся в S-фазе, через 3 суток более чем в 2 раза превосходят соответствующий контроль ($+125,4\%$; $P<0,05$), через 7 суток — на $67,0\%$ ($P<0,05$), а через 14 суток, напротив, их количество снижается на $26,3\%$ ($P<0,05$). Примечательно, что через 3 и особенно 7 суток клетки, способные к синтезу ДНК, активнее вовлекаются в пролиферацию (процент клеток в S-фазе среди ранних предшественников), в то время как через 14 суток — заметно меньше. Расчет доли синтезирующих ДНК клеток в эритроидном ряду показывает изменения величины пролиферативного пула этого ростка: увеличение через 3 и 7 суток ($+61,4\%$ и $+48,3\%$ соответственно) и уменьшение через 14 суток холодового воздействия ($-40,5\%$). Пул созревающих клеток, о размерах которого можно судить по значениям отношения этих клеток ко всем в эритроидном ряду (индекс созревания), уменьшается через 3 суток и увеличивается через 14 суток.

Активация эритроидного ростка КМ сопровождается развитием ретикулоцитоза, выраженность которого больше через 7 суток, но отмечается и через 14 суток.

Анализ полученных данных свидетельствует, что через 3 суток возрастание регенерации клеток красной крови обеспечивается за счет значительного увеличения плацдарма эритроидного кроветворения, количества ранних предшественников, незначительной стимуляции их вступления в пролиферацию и сокращение продолжительности их клеточного цикла. Через 7 суток продукция клеток еще более возрастает, но главным образом за счет интенсификации пролиферативных процессов и созревания при некотором сокращении пролиферативного плацдарма. Через 14 суток последний еще более сокращается, при этом, по-видимому, увеличивается скорость прохождения клетками пролиферативного цикла.

Действие холода на экспериментальных животных в течение 3 суток не вызывает заметных изменений показателей дыхания клеток КМ. По совокупности признаков можно говорить лишь о тен-

денции активации миелокариоцитов, которая находит подтверждение в достоверном увеличении СД як. Не обнаруживаются достоверные отличия и в количестве и соотношении эндогенных энергетических субстратов в клетках КМ.

Через 7 суток действия низкой температуры указанная тенденция становится более выраженной. Увеличивается эндогенное дыхание миелокариоцитов ($V_{\text{энд}} + 29,9\%$; $P < 0,05$), дыхание в присутствии сукцината ($V_{\text{як}} + 28,3\%$; $P < 0,05$) и смеси глутамата и малата ($V_{\text{г+м}} + 47,4\%$; $P < 0,05$) при неизменной активности разобщенного дыхания ($V_{\text{днф}}$). В результате СДднф падает. При этом отмечается тенденция к уменьшению общего фонда эндогенных субстратов ($V_{\text{днф}} - 16,8\%$; $P > 0,05$), за счет НАД-зависимых (АЧ снижается на $28,3\%$; $P < 0,05$) при неизменном уровне МЧ и АМР.

Холодовое воздействие в течение 14 суток вызывает еще более выраженную стимуляцию окислительных процессов в клетках КМ. Это выражается возрастанием скоростей эндогенного дыхания миелокариоцитов ($+48,7\%$; $P < 0,05$), дыхания в присутствии сукцината ($+41,2\%$; $P < 0,05$) и смеси глутамата и малата ($+124\%$; $P < 0,05$), а также разобщенного дыхания на сукцинате ($+14,7\%$; $P > 0,05$) и НАД-зависимых субстратах ($+45,5\%$; $P < 0,05$). Более выраженная стимуляция дыхания на глутамате и малате равновероятно может объясняться как преимущественной активацией НАДН-оксидишной системы, так и ускорением транспорта субстратов через клеточную мембрану с участием челночных механизмов.

В этот период при неизменном уровне общего количества эндогенных субстратов в миелокариоцитах ($V_{\text{днф}}$) отмечается повышение вклада сукцината в окислительный метаболизм клеток ($\% \text{МЧ} + 50,6\%$) и тенденция увеличения его количества в клетках (МЧ $+42,4\%$; $P > 0,05$) по сравнению с контролем. Одновременно снижается количество и доля НАД-зависимых субстратов (АЧ $-25,0\%$) и увеличивается — липидов. Последнее проявляется ростом АМР ($+44,8\%$) и его доли ($\% \text{АМР} + 52,3\%$).

В целом под влиянием холода отклонения окислительных процессов в КМ от исходного состояния постепенно нарастают и максимально выражены через 14 суток воздействия, когда отмечается наибольшая интенсивность синтеза ДНК в пролиферирующих клетках.

По-видимому, нет оснований полагать, что энергетические процессы в кроветворной ткани лимитируют процессы регенерации при

умеренной их стимуляции, например при действии низкой температуры на организм.

У животных, содержащихся при низкой температуре в течение 3 суток до кровопускания, и в послеоперационном периоде постгеморрагическое восстановление красной крови ускоряется. Во все исследованные сроки, за исключением 5 суток, уровень гемоглобина и эритроцитов достоверно выше по сравнению с контролем и через 7 суток уже не отличается от исходного (до кровопускания). Раньше развивается ретикулоцитарная реакция. Уровень, который регистрируется у контрольных животных через 5 суток после операции, наблюдается уже через 3 суток. К 7 суткам количество ретикулоцитов достоверно ниже, что свидетельствует о завершении регенераторного ответа.

Кратковременное холодовое воздействие вызывает стимуляцию пролиферативных процессов в КМ — увеличивается общее количество миелокариоцитов, включающих ^3H -тимидин, а также их доля среди всех клеток (особенно на 3 сутки после кровопускания). В то же время клеточность КМ у животных этой группы в динамике постгеморрагического периода прогрессивно падает. При этом уменьшается количество клеток гранулоцитарного ряда при незначительных изменениях относительной величины этого ростка. Практически неизменными остаются абсолютные и относительные размеры лимфоидного ростка. Количество клеток в S-фазе (включающие тимидин) в этих двух ростках не отличается от контроля.

Относительная величина эритроидного ростка КМ у животных 2 группы равна таковой в контроле, за исключением первых суток после кровопускания. По-видимому, в этот срок сказываются явления эритроидной гиперплазии в момент регенераторного стимула вследствие 3-суточного действия низкой температуры. Абсолютное количество эритроидных клеток постепенно снижается, что, вероятно, связано с ускоренным их созреванием и выходом из КМ. Количество клеток, способных к пролиферации в постгеморрагическом периоде, снижается по сравнению с исходным уровнем, но не отличается от показателей контрольного уровня. В то же время вступление этих клеток в пролиферацию (индекс меченых клеток, способных к синтезу ДНК) выше, особенно через 1 и 3 суток. В результате доля синтезирующих ДНК клеток (меченых ^3H -тимидином) в эритроидном ряду у животных этой группы в течение первых 5 суток, особенно через 3 суток, выше, чем в контроле. Однако

суммарное включение ^3H -тимидина в ДНК миелокариоцитов больше только через 1 сутки после операции, а включение радионуклида в расчете на количество клеток, находящихся в S-фазе, не отличается от контроля через 1, 3, 5 суток и достоверно падает через 7 суток.

Совокупность представленных данных свидетельствует, что ускорение восстановления показателей крови после кровопускания у животных с кратковременным предварительным и продолжающимся действием низкой температуры обеспечивается активацией пролиферативной активности эритрокариоцитов и, возможно, ускорением созревания клеток предшественников, их усиленным выходом в циркуляцию. При этом к 7 суткам ряд показателей КМ нормализуется, что свидетельствует о завершении регенераторного ответа на стимул.

Дыхание клеток КМ у животных этой группы мало отличалось от такового у животных с кровопотерей без холодового воздействия. Некоторая стимуляция окислительных процессов через 3 суток совпадает по времени с активацией гемопоэза по сравнению с контрольной группой. Примечательно, что тенденция снижения показателей дыхания миелокариоцитов через 7 суток после операции согласуется с уменьшением интенсивности гемопоэза в КМ к этому сроку в связи с завершением регенераторного ответа.

Сравнение изучаемых показателей дыхания клеток у животных этой группы с исходным состоянием до операции, т.е. через 3 суток действия холода, показывает, что характер реакции окислительного метаболизма в КМ на кровопотерю идентичен таковой у контрольных животных без охлаждения.

При продолжительном действии холода на животных (14 суток до кровопускания и после операции) стимул к регенерации не вызывает существенных изменений количества пролиферирующих клеток в КМ в течение по крайней мере 5 суток и лишь на 7 сутки наблюдается заметное увеличение их количества.

Количество лимфоидных клеток в КМ снижено по сравнению с контролем во все сроки постгеморрагического периода и по сравнению с 3 группой в 1-5 сутки. Доля лимфоидных клеток среди миелокариоцитов снижается по сравнению с исходным уровнем и примерно соответствует таковой в других группах. Синтезирующих ДНК лимфоидных клеток (абсолютные и относительные

значения) меньше через 3 и 5 суток, а индекс меченых клеток через 1 сутки, наоборот, заметно выше.

Наблюдаемые изменения размеров гранулоцитарного роста — его уменьшение — такие же, как и в группе с кратковременным воздействием низкой температуры. Вместе с тем обращает на себя внимание увеличение количества метящихся ^3H -тимидином клеток и их доли в ростке через 1 и 3 суток.

Своеобразная картина наблюдается со стороны эритроидного кроветворения. Содержание эритрокариоцитов в КМ снижено в течение 5 суток после кровопускания. Однако относительные размеры эритроидного роста не меньше, а через 3 суток даже больше контрольных значений. Доля клеток, способных к пролиферации, также близка к контролю, как и их абсолютное количество (за исключением 3 суток). Вступление этих клеток в митотический цикл повышено по сравнению с исходным через 1 и 3 суток после операции, но не отличается по сравнению с контролем. Резкие сдвиги процесса индукции клеток наблюдаются через 5 суток — угнетение и через 7 суток — стимуляция. Примечательно, что суммарное включение ^3H -тимидина в ДНК кариоцитов в расчете на бедро снижено через 3 и 5 суток и связано, очевидно, с заметным уменьшением в КМ общей клеточности и содержания синтезирующих клеток. Включение же радионуклида на клетки, находящиеся в S-фазе, т.е. косвенный показатель скорости синтеза ДНК и протекания фаз репродуктивного цикла через 1 сутки достоверно ниже, через 3, 5 суток значительно выше, а через 7 суток не отличается от уровня у контрольных животных.

Восстановление красной крови у животных с продолжительным действием холода задерживается. При этом содержание гемоглобина в течение 7 суток после операции практически не увеличивается, а уровень эритроцитов в крови даже имеет тенденцию к снижению. Повышение количества ретикулоцитов отсутствует через 1 сутки после операции (в отличие от предыдущих групп), достоверно меньше через 3 суток и достигает наибольшего уровня, наблюдаемого в контрольной группе, лишь на 7 сутки, т.е. примерно на 2 суток позднее.

У животных этой экспериментальной группы отмечаются значительные изменения окислительного метаболизма в КМ (табл. 3). Эндогенное дыхание снижено через 1, 3 и 7 суток и только через 5 суток не отличается от показателей контрольных животных. Аналогично изменяются скорости дыхания на экзогенных субстратах

Таблица 3

**Показатели дыхания клеток костного мозга крыс
в динамике постгеморрагического периода
при продолжительном воздействии холода**

Показатель	Срок после кровопускания, сутки			
	1	3	5	7
Vэнд	1,98±0,19 -59,4% *	2,41±0,19 -39,1% *	2,68±0,44 -9,8%	2,04±0,16 -44,1% *
Vяк	3,07±0,67 -49,9% *	3,17±0,46 -31,8%	4,15±0,51 -15,9%	2,45±0,39 -46,9% *
Vднф як	4,08±0,86 -42,9% *	4,18±0,56 -21,7%	5,05±0,55 + 9,3%	3,27±0,38 -39,4% *
Vэнд+днф	2,45±0,31 -40,0% *	2,73±0,13 -21,3%	2,42±0,23 -12,3%	2,30±0,33 -21,0%
МЧ	0,35±0,07 -40,7%	0,41±0,07 -31,7%	0,29±0,07 -23,7%	0,43±0,10 - 6,5%
% МЧ	15,7±3,7 +9,8%	14,9±2,1 -16,8%	11,6±1,8 -15,3%	18,5±1,5 +18,6%
АЧ	1,10±0,18 -15,4%	1,34±0,10 -0,7%	1,08±0,02 +18,7%	1,07±0,07 +12,6%
% АЧ	44,7±3,2 +39,7% *	49,1±3,2 +22,1%	45,5±4,8 +36,6% *	48,5±4,8 +51,1% *
AMP	0,99±0,16 -54,8% *	0,98±0,09 -35,5%	1,06±0,19 -27,9%	0,79±0,24 -47,3% *
% AMP	39,7±2,1 -25,9% *	35,9±2,9 -14,3%	42,9±3,8 -19,1%	33,0±6,4 -37,0% *

Примечание: * достоверные отличия при сравнении с контрольными животными.

($V_{\text{як}}$, $V_{\text{г+м}}$) и в присутствии разобихителя ($V_{\text{днф як}}$, $V_{\text{днф г+м}}$). Стимулирующее действие добавленного сукцината (СД як) на 10—15% выше соответствующего показателя у контрольных животных, а СДг+м на 3—15% ниже, что косвенно может свидетельствовать о снижении эндогенного сукцината и повышении НАД-зависимых субстратов.

Результаты ингибиторного анализа дыхания клеток (табл. 3) показывают, что количество эндогенных субстратов в миелокарионитах понижено, особенно через 1 сутки после кровопускания (—40%; $P < 0,05$). Отмечается тенденция уменьшения эндогенного сукцината (МЧ) в течение первых 5 суток на 20—40% при относительно неизменной доле МЧ на эндогенных субстратах. Во все исследованные сроки, особенно выражено через 1 и 7 суток, снижается активность и долевой вклад окисления липидов (АМР и %АМР). Количество эндогенных НАД-зависимых субстратов (АЧ) в динамике постгеморрагического периода остается практически на неизменном уровне и не отличается от контрольных значений. Вклад же этих субстратов в окислительный метаболизм клеток КМ (%АЧ дыхания) животных с длительным холодовым воздействием в исследованные сроки постгеморрагического периода повышен на 30—50%.

Таким образом, нарушение восстановительных процессов в системе крови при продолжительном воздействии низкой температуры развивается при угнетении дыхательной активности миелокарионитов, снижении содержания эндогенных субстратов и их утилизации, в том числе сукцината и особенно липидов. Вместе с тем признаки повреждения энергетического аппарата не обнаруживаются.

Известно, что после удаления 2/3 массы органа от 30 до 60% оставшихся клеток через 3—4 ч вступают в пролиферативный клеточный цикл и относительно синхронно проходят все его фазы. Через 10—14 ч после операции в остатке печени заканчиваются процессы подготовки к редупликации генома (G1) и начинается синтез ДНК, максимум которого наблюдается через 18—24 ч (S-фаза). После непродолжительной фазы (подготовка к делению — G2) формируется первая, наиболее выраженная волна митозов (завершающая фаза цикла), которая регистрируется через 28—36 ч после ЧГЭ. Позднее пролиферативные процессы ослабевают и становятся менее синхронными, однако ряд авторов отмечает вторую, а иногда и третью волны пролиферации [19, 29]. Одновременно с клеточной гиперплазией

развивается гипертрофия гепатоцитов, заметная уже через 24 ч после ЧГЭ [20].

Результаты наших измерений параметров регенераторного ответа после 70% гепатэктомии хорошо согласуются с данными литературы. Интенсивность включения ^3H -тимидина в ДНК через 12 ч после ЧГЭ относительно невелика (лишь на 28% выше, чем у интактных животных), многократно (в 64 раза) увеличивается через 24 ч, падает к 36 ч, оставаясь примерно в 10 раз выше уровня 12 ч, вновь достоверно увеличивается через 48 ч, оставаясь на этом уровне и через 72 ч после операции. При этом к 12 ч уже около 2% ядер метится ^3H -тимидином, через 24 ч — примерно 28%, через 36—48 ч — вполосину меньше, а через 72 ч — около 8,5%. С учетом того, что часть ядер принадлежит двуядерным клеткам, процент гепатоцитов, находящихся в S-фазе, в соответствующие сроки несколько выше, чем индекс меченых ядер (ИМЯ).

Активации процессов синтеза ДНК соответствует заметное повышение МИ уже через 24 ч. Наиболее высок индекс через 36 ч. В последующем он снижается, оставаясь значительно выше уровня в интактной печени. Показатели синтеза ДНК (ИМЯ и включение ^3H -тимидина) через 36 ч соответствуют второй волне пролиферации в печени после ЧГЭ.

Содержание ДНК в регенерирующей печени, измеренное биохимическим методом в расчете на г сухой массы, не увеличивается, как следовало бы ожидать, поскольку синтез ДНК в ткани многократно возрастает, а наоборот, уменьшается через 24, 36 и 48 ч примерно на 1/3 по сравнению с уровнем 12 ч после операции. Повидимому, этот феномен можно рассматривать как отражение процессов гипертрофии клеток. Такая оценка хорошо согласуется с данными литературы, из которых следует, что уже через 12 ч после ЧГЭ наблюдаются ультраструктурные признаки гипертрофии клеток, постепенно уменьшающиеся к третьим суткам после операции [30, 35, 37].

К 72 ч печень у крыс восстанавливается примерно до 85% исходной массы, т.е. почти в 3 раза превосходит остаток органа после ЧГЭ. Следует подчеркнуть, что процент сухой массы во все исследованные сроки практически не меняется, т.е. изменения не связаны с задержкой жидкости. Обращает на себя внимание, что увеличение печени происходит уже к 12 ч и особенно велика интен-

*Окислительный энергетический метаболизм
и состояние регенераторных процессов в тканях*

сивность прироста массы в период с 24 до 36 ч и с 48 до 72 ч. Напротив, с 36 до 48 ч масса печени не меняется.

Нами проведен подробный анализ тканевого дыхания гомогената печени, изолированных митохондрий и изолированных клеток регенерирующей печени [23, 24]. Выбор сроков исследования (3, 12, 24 и 36 ч после частичной гепатэктомии) обусловлен динамикой пластических и пролиферативных процессов в остатке органа.

Окислительный метаболизм в регенерирующей печени активирован, что проявляется в увеличении дыхания гомогената на эндогенных ($V_{энд}$) и добавленных субстратах ($V_{як}$) (табл. 4). Вместе с тем через 12 ч после ЧГЭ $V_{энд}$ не отличается от исходного уровня, а $V_{як}$ даже заметно ниже. Скорость дыхания в активном фосфорилирующем состоянии (V_3) также увеличена через 3, 24 и в меньшей степени через 36 ч, а через 12 ч, напротив, снижена.

Таблица 4

**Показатели дыхания гомогената регенерирующей
печени крыс (на О/мин мг белка) $M \pm m$**

Показатель	Контроль	Срок после операции ЧГЭ, часы			
		3	12	24	36
$V_{энд}$	14,6 $\pm$ 1,1	25,6 $\pm$ 1,4 *	15,2 $\pm$ 1,3	26,4 $\pm$ 0,9 *	25,3 $\pm$ 1,5 *
$V_{як}$	25,1 $\pm$ 1,9	37,2 $\pm$ 2,1 *	18,7 $\pm$ 0,8 *	35,2 $\pm$ 0,9 *	26,7 $\pm$ 1,8
V_3	100,7 $\pm$ 4,1	134,2 $\pm$ 5,9 *	87,9 $\pm$ 2,8 *	107,9 $\pm$ 1,6 *	109,1 $\pm$ 6,0
V_4	26,9 $\pm$ 2,0	42,6 $\pm$ 4,2 *	17,4 $\pm$ 1,5 *	27,9 $\pm$ 2,9	28,6 $\pm$ 2,0
ДК	3,74 $\pm$ 0,16	3,15 $\pm$ 0,29	5,06 $\pm$ 0,34 *	4,23 $\pm$ 0,43	3,82 $\pm$ 0,15
АДФ/О	1,29 $\pm$ 0,09	1,21 $\pm$ 0,09	1,18 $\pm$ 0,05	0,99 $\pm$ 0,04 *	1,01 $\pm$ 0,07 *
$V_{энд+днф}$	21,1 $\pm$ 1,3	54,3 $\pm$ 4,6 *	30,6 $\pm$ 2,0 *	41,2 $\pm$ 2,0 *	38,0 $\pm$ 1,4 *
МЧ	11,1 $\pm$ 1,3	35,4 $\pm$ 5,7 *	21,0 $\pm$ 2,7 *	29,6 $\pm$ 3,2 *	15,7 $\pm$ 1,8
% МЧ	52,8 $\pm$ 4,9	65,1 $\pm$ 2,8	68,6 $\pm$ 2,6 *	71,9 $\pm$ 3,0 *	41,4 $\pm$ 2,0
АЧ	4,8 $\pm$ 0,7	12,4 $\pm$ 1,9 *	6,2 $\pm$ 1,5	9,3 $\pm$ 1,4 *	11,2 $\pm$ 2,5 *
% АЧ	22,9 $\pm$ 2,6	22,8 $\pm$ 2,2	20,4 $\pm$ 3,0	22,5 $\pm$ 2,4	29,4 $\pm$ 3,5
AMP	5,8 $\pm$ 0,4	9,2 $\pm$ 0,6 *	3,4 $\pm$ 0,7 *	8,3 $\pm$ 0,6 *	11,1 $\pm$ 1,0 *
% AMP	27,4 $\pm$ 1,7	16,9 $\pm$ 0,8 *	11,1 $\pm$ 1,2 *	20,1 $\pm$ 1,9 *	29,1 $\pm$ 2,3

Полученные результаты указывают на увеличение сукцинатоксидазной активности в самый ранний период регенераторного ответа (индукция пролиферативной программы клеток) и в период наибольшей синтетической активности (24 ч после ЧГЭ, что соответствует S-фазе) и снижение сукцинатоксидазной активности в конце пресинтетического периода (12 ч после ЧГЭ).

Аналогичные тенденции с некоторыми особенностями наблюдались нами и при исследовании изолированных митохондрий. В начальный период регенерации на митохондриях также отмечалось угнетение сукцинатоксидазной активности, но в более ранние часы.

Активность НАДН-оксидазной системы, регистрируемой по скорости дыхания гомогената в присутствии оксibuтирата, малоната и разобщителя ДНФ, повышена и находится примерно на одном постоянном уровне. Аналогичные изменения обнаружены нами на митохондриях. Причем сопоставление активности окислительного фосфорилирования на различных субстратах позволило связать описанные изменения с перестройкой в первом пункте сопряжения — наиболее «узком месте» в дыхательной цепи. Умеренное ослабление жесткой регуляции транспорта электронов в этом участке цепи дыхательных переносчиков приводит к существенному увеличению скорости фосфорилирующего дыхания, благодаря чему синтез макроэргов повышается [8].

Одним из механизмов активации окисления этих субстратов в регенерирующей печени может быть стимулирующее действие ионов Са на НАД-зависимые митохондриальные дегидрогеназы цикла трикарбоновых кислот [34]. Известно, что Са как внутриклеточный мессенджер играет важную роль в индукции пролиферации гепатоцитов [5, 36]. Нами обнаружено, что содержание Са на мг белка в митохондриях регенерирующей печени через 5 ч после ЧГЭ возрастает в 10 раз, в 2 раза повышается Са-емкость, определяемая как максимальное количество ионов, аккумулируемых и удерживаемых органеллами.

Во все исследованные сроки выражен контроль скорости дыхания со стороны аденилатов (дыхательный контроль — ДК). Причем этот показатель несколько снижается через 3 ч после ЧГЭ, что говорит об активации энергетического аппарата с напряжением. Через 24 ч, напротив, ДК несколько возрастает, что характерно для оптимально стимулированных митохондрий. Наиболее высок показатель ДК через 12 ч, что позволяет исключить рассмотрение снижения скоростей

дыхания в различных метаболических состояниях в этот срок как следствие повреждения клеточного энергетического аппарата.

Показатель сопряжения окисления и фосфорилирования (АДФ/О) постепенно снижается и через 24 и 36 ч после ЧГЭ достоверно ниже исходного уровня, что может быть связано не собственно с разобщением, а с отвлечением части макроэргов в гомогенате, для биосинтетических эндэргических реакций.

Содержание эндогенных энергетических субстратов, о котором можно судить по величине $\dot{V}_{\text{днф}}$ (табл. 4), во все сроки, в том числе и через 12 ч, повышено. Причем увеличение количества НАД-зависимых субстратов (АЧ) сопровождается возрастанием их относительного вклада в окислительный метаболизм (%АЧ) лишь через 36 ч. Повышение содержания эндогенного сукцината в гомогенате печени (МЧ) более выражено через 3 и 24 ч и менее — через 12 и особенно 36 ч. Причем относительный вклад сукцината как энергетического субстрата (%МЧ) в течение первых суток (3, 12, 24 ч) после ЧГЭ повышен, а через 36 ч — снижен.

При сопоставлении данных, полученных на гомогенате, с результатами оценок количества эндогенных субстратов в функциональных пробах на митохондриях обнаруживается их согласованность в целом, а некоторые расхождения объясняются значительными отличиями этих препаратов. Так, снижение эндогенного сукцината, определяемое в разведенной суспензии митохондрий, через 3 и 10 ч не воспроизводится при измерении дыхания более густой суспензии. С одной стороны, этот факт указывает на большое значение условий проведения измерений, в ходе которых имеющиеся тенденции могут многократно усиливаться, что необходимо учитывать при сопоставлении результатов, тем более полученных на разных препаратах. С другой стороны, снижение сукцината, по-видимому, обусловлено быстрой утилизацией субстрата без его достаточного воспроизводства, что свидетельствует о повышении его роли в энергетическом метаболизме регенерирующей печени.

Интенсивность окисления липидов (АМР) заметно возрастает в гомогенате регенерирующей печени уже через 3 ч после операции, снижается через 12 ч и вновь увеличивается позднее, превосходя исходный уровень почти в 2 раза к 36 ч (табл. 4). При этом доля липидов в окислительном метаболизме (%АМР) оказывается сниженной в течение первых суток и равна исходным значениям через

36 ч. Эти результаты полностью совпадают с аналогичными исследованиями на митохондриях и хорошо согласуются с имеющимися данными литературы об увеличении содержания липидов в остатке печени. Начало снижения содержания липидов в регенерирующей печени совпадает по времени с 1,5–2-кратным увеличением окисления липидов в митохондриях. Важную роль расщепления жиров в энергетическом метаболизме регенерирующей ткани подтверждают данные о том, что угнетение липолиза путем массивного введения глюкозы может вызвать снижение регенераторной реакции [33], а ингибирование окисления жирных кислот в печени приводило к резкому падению энергетического заряда и концентрации АТФ и почти двукратному угнетению синтеза ДНК [32]. Ингибирование гликолиза такого эффекта не вызывало [31].

Известно, что окисление жиров — основной источник сукцината при активации энергетического обмена [10]. Усиление липолиза по времени совпадает с накоплением и увеличением использования сукцината, что наблюдается и на гомогенате, и на изолированных митохондриях и указывает на важнейшую роль окисления в эффективной субстратной поддержке активированной сукцинатоксидазной системы в регенерирующей печени.

Результаты измерения активности окислительных систем и оценки фонда различных энергетических субстратов, полученные нами на гомогенате, изолированных митохондриях, а также целых клетках, и анализ литературных данных позволяет считать, что в динамике усиления пластических процессов в регенерирующей печени значение сукцинатоксидазной системы в энергетическом метаболизме возрастает. Это связано, по-видимому, с уникальными свойствами сукцината как субстрата и системы его окисления, способных обеспечить большую скорость энергопродукции, высокую восстановленность пиридиннуклеотидов, необходимую для биосинтезов, эффективный транспорт ионов, например Са [10].

Холодовое воздействие на животных вызывало заметные изменения окислительного метаболизма в регенерирующей печени, проявляющиеся в сдвигах активности различных ферментных систем, содержания эндогенных энергетических субстратов и их вклада в обеспечение энергообмена ткани.

Действие низкой температуры в течение 3 суток до ЧГЭ и в послеоперационном периоде до забоя животных сопровождается

некоторым снижением скорости эндогенного дыхания гомогената ($V_{\text{энд}}$) регенерирующей печени, особенно через 3 и 36 ч после операции по сравнению с контрольными крысами — также частично гепатэктомированными, но без холодового воздействия.

Признаками активации и напряжения энергетического аппарата является некоторое снижение коэффициента АДФ/О в ранние сроки регенерации, повышение стимулирующего действия субстрата (СДяк) на увеличение скорости дыхания гомогената в присутствии АДФ (V_3) на сукцинате, некоторое понижение ДК через 12 и 24 ч после ЧГЭ.

Количество эндогенных субстратов в ткани, судя по скорости разобщенного дыхания, лишь незначительно ниже контрольной величины через 3 ч, практически не отличается через 12 ч и заметно выше через 24 и 36 ч после ЧГЭ. При этом количество эндогенного сукцината (МЧ) достоверно снижается через 3 и 24 ч и увеличивается через 36 ч. Во все сроки за исключением последнего уменьшается доля сукцината в окислительном метаболизме (% МЧ). Величина АЧ (НАД-зависимые субстраты) практически не отличается от таковой у контрольных животных, а его доля в той или иной степени снижена во все сроки исследования. Вместе с тем во все сроки увеличивается величина и доля АМР, отражающего процесс утилизации липидов и соответственно их количества как энергетических субстратов.

Обнаруженная стимуляция липолиза является наиболее вероятной причиной наблюдаемых изменений со стороны энергетического аппарата в регенерирующей печени животных этой экспериментальной группы. Известно, что мобилизация липидов, ведущая среди прочего к увеличению доли сукцината в обмене, обеспечивает приспособление к возросшим энергозатратам [9]. Однако чрезмерная интенсификация этого процесса при кратковременном холодовом воздействии приводит, по-видимому, к избыточному восстановлению НАД с торможением дегидрогеназных реакций, нарушению регуляции митохондрий и в результате снижению дыхания в отсутствие разобшителя ($V_{\text{энд}}$), стимуляции дыхания при добавлении сукцината, не требующего для окисления НАД. Сопоставление показателей $V_{\text{энд}}$ и $V_{\text{днф}}$ свидетельствует, что во все исследованные сроки имеются признаки перевосстановленности пиридиннуклеотидов.

Продолжительное действие низкой температуры на животных (14 суток до ЧГЭ и в послеоперационном периоде) вызывает значительное повышение скорости дыхания гомогената печени через 12—36 ч после индукции регенерации. Причем внесение сукцината лишь через 3 ч заметно стимулирует дыхание препаратов, а в остальные сроки практически не влияла на него. Абсолютные значения скорости дыхания на сукцинате ($V_{\text{як}}$) в динамике регенерации остаются неизменными, а по сравнению с контролем повышены через 12 и 36 ч. Такое сочетание признаков отражает стимуляцию энергетического метаболизма в ткани при достаточном количестве субстратов, его обеспечивающем.

Скорость дыхания гомогената в присутствии сукцината и АДФ (V_z) близка к таковой в контроле и лишь через 12 ч превышает ее на 25% ($P < 0,05$). Причем колебания V_z в различные сроки незначительны. Энергетическая регуляция дыхательной цепи (величина ДК) только через 12 ч заметно снижена, а в другие сроки практически не отличается от контроля. В препаратах регенерирующей печени этой группы животных несколько ниже коэффициент АДФ/О, особенно в ранние часы (3—12) после ЧГЭ.

У животных с продолжительным холодовым воздействием через 3 ч после операции обнаруживаются признаки дефицита эндогенных энергетических субстратов — снижение $V_{\text{днф}}$. Позднее их количество значительно увеличивается, особенно через 12 и 24 ч и в меньшей степени через 36 ч. Эту динамику точно повторяет величина МЧ (количество эндогенного сукцината). Доля сукцината в обеспечении окислительного метаболизма регенерирующей печени через 3—24 ч после операции на уровне контроля, а через 36 ч заметно выше. Фонд эндогенных НАД-зависимых субстратов (АЧ) также сокращается через 3 ч и возрастает через 12 и 24 ч, и лишь в эти сроки их относительный вклад близок к контрольным значениям, в остальные — снижен. Количество утилизируемых липидов (АМР) несколько снижено через 3 ч и почти в 2 раза возрастает через 12 ч после ЧГЭ. Вместе с тем долевой вклад этих субстратов повышен через 3 ч, не отличается от контроля через 12 ч и снижен через 24 и 36 ч.

Динамика изменений многих измеряемых показателей в печени животных с продолжительным воздействием холода в ходе регенерации отличается от таковой у контрольных животных. В частности, отсутствует значительная стимуляция окислительного метаболизма

в ранние часы с последующим его угнетением к 12 ч после ЧГЭ, что соответствует концу G1 периода клеток, участвующих в первой волне пролиферации. Вместе с тем обнаружена своеобразная динамика фонда эндогенных субстратов — дефицит в первые часы и значительное увеличение их в дальнейшем. В целом показатели у животных этой группы по сравнению с крысами, подвергнутыми кратковременному холодовому воздействию, ближе к таковым у контрольных крыс, по сравнению с крысами, подвергнутыми кратковременному холодовому воздействию, что отражает, очевидно, процесс адаптации при действии экстремального фактора. Более того, у животных этой группы в энергетическом метаболизме усиливаются некоторые тенденции, которые, как было установлено выше, имеют важное значение для регенерирующей ткани, а именно увеличение эндогенных субстратов и особенно сукцината при стабильной и несколько повышенной активности сукцинат- и НАДН-оксидазных систем и оптимальном усилении липолиза.

Обнаруженные сдвиги в окислительном метаболизме у животных с продолжительным холодовым воздействием, а именно дефицит энергетических субстратов в ткани в первые часы после операции и накопление их в последующем могут быть одной из причин несинхронного пролиферативного ответа клеток печени на резекцию.

Более выраженные нарушения регенераторных процессов при кратковременном действии холода на организм сопровождаются чрезмерной стимуляцией липолиза, приводящей к нарушению регуляции энергетического аппарата, ограничению использования субстратов и, по-видимому, к определенному энергетическому дефициту в печени.

Включение ³H-тимидина в ДНК у животных этой группы падает через 24 ч после операции, повышается через 36 ч, значительно снижается через 48 ч и не отличается от уровня в контрольной группе. Иначе изменяется в динамике регенераторного ответа ИМЯ — заметно увеличивается через 24 ч, не отличается от контроля через 36 ч и значительно снижается через 48 и 72 ч. Примечательно, что ИМЯ через 12 ч в 4–5 раз ниже. Результаты показывают, что индукция пролиферации в печени этих животных замедляется, что ведет к задержке формирования первой волны делящихся клеток и смещению пика синтеза ДНК на более поздние, чем в контроле, часы. Интенсивность синтеза ДНК в индуцированных к пролиферации клетках снижается, замедляется формирование 2-й волны пролиферации.

Содержание ДНК в регенерирующей печени животных этой группы во все сроки выше по сравнению с контролем, особенно через 36 и 48 ч. В связи с этим можно предполагать, что гипертрофическая составляющая в процессе адаптивного роста в печени в этих условиях существенно уменьшается.

Восстановление массы печени у животных этой группы задерживается, что особенно заметно через 36 и 72 ч.

В целом пролиферативные процессы в этих условиях ингибируются, причем нарушается не столько индукция клеток (вступление в пролиферативный цикл), сколько развитие фаз цикла, что сопровождается замедлением пролиферативного ответа.

Одновременно уменьшается вклад гипертрофической составляющей и не наблюдается полиплоидизации (средняя плоидность даже несколько снижается). В результате восстановление массы органа происходит медленнее и носит в отличие от контрольных животных монотонный характер. Последнее, по-видимому, отражает нарушение временной организации регенераторного ответа ткани. В этих условиях не наблюдается взаимной компенсации компонентов адаптивного роста.

У животных, которых подвергали 14-суточному предоперационному холодовому воздействию, включение ^3H -тимидина в ДНК во все исследованные сроки (за исключением 48 ч) достоверно отличается от контроля. Причем через 12 ч оно выше (+63,8%; $P < 0,05$), через 24 ч — ниже (–58,3%; $P < 0,001$), через 36 ч снова значительно выше (+131,1%; $P < 0,01$), а через 72 ч на 29,7% ($P < 0,05$) ниже уровня в контрольной группе. На основании этих результатов, а также снижения ИМЯ и индекса меченых клеток напрашивается вывод о еще более выраженном, чем при кратковременном воздействии холода, угнетении пролиферативных процессов. Но одновременно в регенерирующей печени этих животных через 24 ч после операции наблюдается более чем двукратное увеличение МИ по сравнению с контрольной группой без холодового воздействия. Следовательно, некоторая часть индуцированных к пролиферации клеток прошла S-фазу, тимидин уже не включает и в результате значення обсуждаемых показателей прямо не отражают истинную величину волны пролиферации. Очевидно, правильнее говорить не об угнетении пролиферативных процессов, а о рассинхронизации пролиферативного ответа в печени этих животных после ЧГЭ. При этом часть

клеток ускоренно проходит фазы митотического цикла, а часть, наоборот, позднее вступает в пролиферацию и таким образом ответ как бы растягивается во времени, менее интенсивен в каждый из сроков исследования, а в целом сравним с таковым у контрольных животных. Последнее, в частности, вытекает из анализа изменений соотношения классов клеток различной плоидности с учетом возможного их движения в результате синтеза ДНК и деления. Количество таких клеток составляет примерно 37% всей популяции и практически не отличается от контроля. Тот факт, что ИМЯ через 12 ч, а также через 36 ч ниже контроля, а включение — выше, может свидетельствовать об увеличении скорости синтеза ДНК и, соответственно, ускорении прохождения фаз клеточного цикла. Вместе с тем, индукция клеток происходит не одновременно, частично даже с опозданием по сравнению с контролем, на что однозначно указывает снижение ИМЯ через 12 ч после операции.

Содержание ДНК в расчете на 1 г массы органа во все исследованные сроки на 10—15% выше, чем в контроле. По-видимому, это отражает уменьшение процессов гипертрофии в регенерирующей печени этих животных, однако в меньшей степени, чем в группе с кратковременным действием холода. Результатом оригинального сочетания компонентов адаптивного роста в печени является своеобразная динамика массы остатка органа после ЧГЭ. Восстановление массы к 24 ч опережает контрольные значения. Однако с 24 до 48 ч прирост массы практически не происходит. В течение последующих суток прирост массы возобновляется, причем скорость его меньше, чем в контроле, и несколько выше, чем в группе с кратковременным предварительным охлаждением.

Таким образом, при продолжительном действии холода особенностью адаптивного роста в печени после ЧГЭ является некоторое усиление и рассинхронизация первой части пролиферативного ответа с некоторым угнетением его на более поздних фазах, уменьшение вклада гипертрофической составляющей и отсутствие полиплоидизации и даже снижение средней плоидности гепатоцитов. В совокупности эти процессы обеспечивают первоначально даже некоторую активацию регенерации, в дальнейшем, однако, не обеспечивают полноценное восстановление массы.

Доказательством существования связи энергетических и пластических процессов в регенерирующей печени могут служить наши

данные об изменении характера и интенсивности восстановления ткани под влиянием воздействий, направленных главным образом на энергетический метаболизм. Кратковременные сеансы гипоксической гипоксии, способные стимулировать накопление и использование сукцината [10], вызывали усиление компенсаторно-гипертрофической составляющей с увеличением количества гипертрофированных и даже гигантских клеток [23]. Под влиянием кислорода под повышенным давлением (ГБО) в регенерирующей печени значительно возрасла митотическая активность клеток, а также резко увеличилось количество купферовских клеток и их гипертрофия.

Направленная стимуляция сукцинатоксидазной системы в регенерирующей печени в первые часы после частичной гепатэктомии под влиянием введения сукцината и глутамата сопровождается активацией пролиферативных процессов, смещением пролиферативного пика на более ранние часы после операции, а также значительным снижением процента дегенерирующих клеток.

Анализ собственных данных и сведений литературы свидетельствует о наличии в динамике регенераторного ответа ткани отдельных периодов (ранние этапы после стимула), в течение которых взаимоотношения энергетических и пластических процессов таковы, что состояние энергетического аппарата определяет характер и интенсивность регенераторного ответа в целом.

Реализовывать такую «управляющую» функцию энергетический аппарат может не только через оптимальное обеспечение необходимой энергией и пластическим материалом, но и через контроль за важнейшим внутриклеточным мессенджером — Ca_2^+ , через регуляцию перекисного окисления липидов путем генерации антиоксидантов в зависимости от своего функционального состояния [3].

Мы полагаем, что представленные данные не только развивают теоретические представления о закономерностях регуляции регенераторных процессов в тканях и роли при этом метаболических факторов, но и обосновывают возможность направленных влияний на репаративные процессы в тканях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акоев И.Г., Мотлох Н.Н. Биофизический анализ предпатологических и предлейкозных состояний. — М.: Наука, 1984. — 288 с.
2. Баркова Э.Н. О механизме действия эритропоэтина на энергетический обмен костного мозга // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1972. — Т. 73. — № 6. — С. 15-18.
3. Взаимодействие перекисного окисления липидов и антиокислительной активности как фактор метаболической регуляции в регенерирующих тканях при действии экстремальных факторов // Антиоксидантные системы организма при экспериментальной и клинической патологии. Сб. научных трудов. Свердловск, 1987. — С. 53-70.
4. Дубынин В.Н., Нефедов В.П. Изменение некоторых показателей энергетического метаболизма костного мозга при стимуляции эритропоэза // Патол.физиология и эксперим. терапия. — 1977. — № 2. — С.52-56.
5. Епифанова О.И., Терских В.В., Полуновский В.А. Покоящиеся клетки. — М.: Наука, 1983. — 176 с.
6. Коваленко Е.А., Березовский В.А., Эпштейн И.М. Полярнографическое определение кислорода в организме. — М.: Медицина, 1975. — 231 с.
7. Козинец Г.И., Котельников В.М., Гольдберг В.Е. Цитофотометрия гемопоэтических клеток. — Томск: Изд-во Томского ун-та, 1986. — 224 с.
8. Кондрашова М.Н. Градации метаболического состояния митохондрий и реактивность ткани // Митохондрии. Структура и функции в норме и патологии. — М.: Наука, 1971. — С. 25-40.
9. Кондрашова М.Н. Основные понятия биоэнергетики, используемые в функциональных исследованиях. Подвижность метаболических реакций митохондрий //Регуляция энергетического обмена и устойчивость организма; Отв. ред. М.Н. Кондрашова. — Пушкино, 1975. — С. 67-82.
10. Кондрашова М.Н. Выясненные и намевшиеся вопросы на пути исследования регуляции физиологического состояния янтарной кислотой // Терапевтическое действие янтарной кислоты. — Пушкино, 1976. — С. 8-30.
11. Кротов В.К. Окислительные процессы в ткани костного мозга при постгеморрагической анемии: Автореф. дис... канд. биол. наук. — Челябинск, 1988. — 22 с. — (Свердловский мед. ин-т)
12. Лукьянова Л.Д., Балмуханов Б.С., Уголев А.Т. Кислородзависимые процессы в клетке и ее функциональное состояние. — М.: Наука, 1982.
13. Меерсон Ф.Э. Адаптация, стресс и профилактика. — М.: Наука, 1981. — 276 с.

14. Месерсон Ф.З. Основные закономерности индивидуальной адаптации // Физиология адаптационных процессов. — М.: Наука, 1986. — Гл.1. — С. 10-76. (Руководство по физиологии).

15. Михайлов В.И., Кудякова Н.Н., Нефедов В.П. Динамика изменений константы скорости потребления кислорода костного мозга кроликов при острой постгеморрагической анемии // Физиол. журн. СССР им. Сеченова. — 1971. — Т. 57, № 4. — С. 591-593.

16. Мотлох Н.Н. Митохондрии и посттравматическая регенерация: обзор // Успехи соврем. биологии. — 1981. — т.92. вып. 3(6). — С. 422-439.

17. Нормальное кроветворение и его регуляция / Под ред. Н.А. Федорова. — М.: Медицина, 1976. — 543 с.

18. Панин Л.Е. Биохимические механизмы стресса. — Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1983. — 233 с.

19. Романова Л.К. Регуляция восстановительных процессов. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1984. — 209 с.

20. Саркисов Д.С., Аруин Л.И., Туманов В.П. Морфология компенсаторно-приспособительных процессов / Под ред. В.В.Серова. — М.: ВИНТИ, 1983. — 135 с. — (Итоги науки и техники. Сер. патологическая анатомия; Т. 4).

21. Саркисов Д.С. Общие закономерности компенсаторно-приспособительных реакций и их структурного обеспечения. Материальные основы надежности биологических систем // Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций: Руководство/АМН СССР; Под ред. Д.С. Саркисова. — М.: Медицина, 1987. — Гл.3. — С. 36-57.

22. Сейц И.Ф., Луганова И.С. Биохимия клеток крови и костного мозга в норме и при лейкозах. — Л.: Медицина, 1967. — 331 с.

23. Цвиренко С.В. О связи пластических и энергетических процессов при повышенной регенерации ткани : Автореф. дисс... канд. мед. наук — Челябинск, 1979. — 26 с. — (Свердловский мед. ин-т)

24. Цвиренко С.В. Состояние регенераторных процессов тканей в условиях воздействия на организм экстремальных факторов.: Автореф. дисс... докт. мед. наук — Челябинск, 1994. — 39 с. — (Свердловский мед. ин-т).

25. Шаффе Г. Дисперсионный анализ: Пер. с англ. — М.: Наука, 1980. — 150 с.

26. Ястребов А.П. О связи эритропоэза с окислительным обменом костного мозга // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 1971. — Т.71, № 2. — С. 18-20.

27. Ястребов А.П. Динамика окислительных процессов в костном мозге при экспериментальном изменении эритропоэза // Экспериментальные исследования механизмов гемопоэза. — Свердловск, 1971. — С. 13-21.

28. Ястребов А.П. О роли гипоксии в механизме регенерации крови: Автореф. дис... докт. мед. наук. — 1972. — 28 с.

29. Bucher N.L., Malt R.A. Regeneration of liver and kidney. — Boston, 1971. — 256 p.

30. Chamuleau R.A., Bosman D.K. Liver regeneration // Hepatogastroenterology. — 1988. — Vol.36, N 6. — P.309-312.

31. Changes in predominant energy substrate after hepatectomy / T.Nakatani, K.Ozawa, M.Asano et al. // Life Sci. — 1981. — Vol. 28, N 3. — P. 257-264.

32. Effects of (+)-octanoylarnitine on deoxyribonucleic acid synthesis in regenerating rabbit liver / T.Nakatani, K.Yasuda, K.Ozawa, S.Kawashima // Clin. Sci. — 1982. — Vol. 62, N 3. — P. 295-297.

33. Influence of protracted infusion of glucose and insulin on the composition and regenerating activity of liver after partial hepatectomy in rats / J.Simek, V.L., Chmela, J.Melka et al. // Nature. — 1967. — Vol. 213. — P. 910-911.

34. Kretsinger R.H., Nelson D.J. Calcium in biological systems // Coordination Chemistry Reviews. — 1976. — Vol. 18. — P. 29-124.

35. Murray A.B., Strecker W., Silz S. Ultrastructural changes in rat hepatocytes after partial hepatectomy and comparison with biochemical results // J. Cell. Sci. — 1981. — Vol. 50. — P. 433-448.

36. Rixon R.H., Whitfield J.F. The control of liver regeneration by parathyroid hormone and calcium // J. Cell Physiol. — 1976. — Vol.87. — P. 147-156.

37. Sobczak J., Duguet M. Molecular biology of liver regeneration // Biochimie. — 1986. — Vol. 68. — N 7-8. — P. 957-967.