

И. Б. ТОКИН

**О ВРЕМЕННОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ СОБЫТИЙ
В ГЕПАТОЦИТАХ ОБЛУЧЕННОЙ И НЕОБЛУЧЕННОЙ
РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ**

(Представлено академиком Е. М. Крепом 26 I 1971)

Процессы регенерации облученной и необлученной печени после частичной гепатэктомии исследовались неоднократно (1-3). Однако, многие вопросы все еще остаются неясными. Так, недостаточно изучена хронология ультраструктурной организации клеток в процессе регенерации. Биохимические события в гепатоцитах протекают при этом в определенной временной последовательности, связанной с прохождением гепатоцитами клеточного цикла (4, 5); несомненно, что они сопровождаются соответствующей ультраструктурной реорганизацией клеток. Основная цель исследования — получение информации об этих изменениях и сравнение процессов реорганизации гепатоцитов регенерирующей необлученной (р.п.) и облученной (о.р.п.) печени.

Белым крысам-самцам линии Вистар весом 180—200 г вводили однократно внутривенно хлорид церия-144 в количестве 200 мкС на животное. Через 45 суток облученным (в этот период роль опосредованных факторов сведена к минимуму, так как изотоп содержится преимущественно в печени, где формирует дозы порядка 70 рад/сутки) и необлученным животным удаляли 2/3 печени по методу Хиггинса — Андерсона. Крыс умерщвляли декапитацией в 6 час. утра. Операции производили соответственно за 2, 6, 12, 20, 24, 28 и 48 час. до забоя. Материал фиксировали в 3% глутаральдегиде с последующей фиксацией в 1% OsO₄ и заливали в аралдит; ультратонкие срезы просматривали в электронном микроскопе JEM-7A. Для количественной оценки морфологических изменений были использованы методы точечной и линейной морфометрии (6). Анализ проводился на гепатоцитах периферических отделов долек. Электронномикроскопическое исследование показало наличие существенных морфологических различий в процессе регенерации облученной и необлученной печени.

Ядро. Объемы ядер и ядрышек клеток необлученной печени характерно меняются. Максимальное увеличение размеров ядрышек происходит спустя 2—6 час. после операции, в период 6—12 час. они еще остаются увеличенными. К 24—48 час. размеры ядрышек приближаются к исходным. Одновременно с изменением объемных соотношений ядер и ядрышек ме-

Таблица 1

Отношение объема околоядрышкового хроматина ($V_{ох}$) к объему ядрышка ($V_{др}$) в гепатоцитах регенерирующей после частичной гепатэктомии печени облученных и необлученных крыс

Часы после частичной гепатэктомии	Необлученная печень	Облученная печень
Контроль	0,39 ± 0,04	0,26 ± 0,028
2	1,72 ± 0,16	0,14 ± 0,012
6	0,82 ± 0,072	0,158 ± 0,014
12	0,55 ± 0,053	0,327 ± 0,033
24	0,57 ± 0,058	0,416 ± 0,039
48	0,405 ± 0,039	0,58 ± 0,054

няется в ядре и содержание ядрышко-связанного хроматина (я.с.х.). Максимальное увеличение его происходит в период 2—6 час. после операции (табл. 1, рис. 1, а); спустя 12 час. количество я.с.х. начинает снижаться и приближается к норме через 24 часа (рис. 1 см. вкл. к стр. 501).

Для периода 2—12 час. после операции типична меньшая плотность ядрышка (повышение степени его «рыхлости»); гранулярный и фибриллярный компоненты (г.к. и ф.к.) хорошо выражены. Через 2 часа после операции их содержание примерно одинаково. Спустя 6 час. количество ф.к. заметно меньше, чем г.к., через 12 час. содержание ф.к. и г.к. выравнивается, к концу первых суток преобладает ф.к., а спустя 48 час. вновь происходит выравнивание соотношений ф.к. и г.к.

Изменения в ядрах клеток о.р.п. во многом аналогичны таковым в клетках р.п., однако сроки изменений значительно сдвигаются. Так, максимальное увеличение размеров ядрышек происходит лишь спустя 6—12 час. после операции (рис. 1, б); через 24 часа они остаются увеличенными. Нормализация объемов не завершается к 48 час., как это характерно для клеток р.п. Общее содержание я.с.х. в отличие от ядер клеток необлученной печени очень мало в период 2—12 час. после операции; оно несколько увеличивается спустя 24 часа и превышает исходные цифры лишь к 48 часам (табл. 1).

Ядрышко на всех этапах регенерации облученной печени более плотное, по сравнению с клетками необлученных животных. Нуклеолозное строение выражено значительно хуже, чем в норме. Г.к. и ф.к. ядрышка плохо выявляются, что вызвано, очевидно, или высокой плотностью ядрышковых структур или изменением их окрашиваемости. Ф.к. выражен относительно больше, чем в контроле, даже на сроках 6—12 час., когда его содержание является минимальным.

К изменениям ядерных структур, характерным для клеток облученной регенерирующей печени (7), относятся повреждения ядерных оболочек, заключающиеся в разрушении наружных мембран, сопровождающемся их «оплавлением»; плотность участков, соответствующих межмембранным пространствам оболочек, также повышена (рис. 1, в). Количество пор резко сокращено. Максимум этих изменений наступает к 6—12 час. опыта.

Ц и т о п л а з м а. На всем протяжении наблюдений для гепатоцитов р.п. и о.р.п. характерны ослабление межклеточных связей и редукция специализированных структур клеточной поверхности. Для клеток р.п. на ранних этапах после операции (2—6 час.) весьма типично уменьшение количества мембран гранулярной эндоплазматической сети (г.э.р.), некоторое возрастание мембран агранулярной сети (а.э.р.) и существенное увеличение числа свободных рибосом и полисом. Эта быстрая структурная реорганизация клеток указывает на смену типа обмена с экстрацеллюлярного на интрацеллюлярный. Значительная часть митохондрий в этот период округляется и претерпевает мутное набухание, сопровождающееся частичной фрагментацией крист. Нормализация строения митохондрий и восстановление общих объемов р.э.р. и а.э.р. происходят в период 24—48 час. В процессе регенерации активизируется лизосомный аппарат, участвующий в аутолитических процессах (через 2—6 час. возрастает число лизосом, а спустя 6—48 час. количество ауто- и гетерофагических вакуолей); и кратковременно интенсифицируется деятельность комплекса Гольджи, восполняющего «расход» лизосом (начало этого процесса приходится на 6—12, а максимум активации — на 24—48 час.). Содержание гликогена на протяжении первых суток после операции снижается вплоть до полного исчезновения. Параллельно в гепатоцитах нарастает количество липидных включений с максимумом — в конце первых — начале вторых суток.

Субмикроскопическая реорганизация гепатоцитов о.р.п. гораздо значительнее, чем в клетках р.п. и облученной неоперированной печени. Г.э.р. и а.э.р. практически полностью исчезают уже к 6 час. после операции; цитоплазма гепатоцитов регенерирующей облученной печени выглядит

опустошенной. Процесс исчезновения компонентов г.э.р. начинается с «оплавления» обширных территорий с постепенным исчезновением мембранных структур. В цитоплазме сохраняются свободные рибосомы и полисомы; число их значительно возрастает спустя 6—12 час. после операции (рис. 1, *д*); в этот же период резко увеличивается содержание а.э.р. Оно остается повышенным и на протяжении 24—48 час. (рис. 1, *е*). По мере восстановления количество свободных рибосом и полисом уменьшается.

Митохондрии округляются и уже через 30—120 мин. претерпевают мутное набухание; укорачиваются и редуцируются кристы. Постепенная нормализация их начинается с 12 час. после операции и интенсифицируется спустя 24—48 час., тогда же возрастает их общее количество. Многие митохондрии еще долго сохраняют следы частичного повреждения, например, характерные вакуолевидные расширения крист (рис. 1, *з*).

Число лизосом (л.) в период 2—6 час. после операции существенным образом не меняется. Вместе с тем, заметно повышается проницаемость их мембран, сопровождающаяся выходом ферментов в окружающую цитоплазму и растворением соседних участков. Процесс этот также интенсивнее, чем в гепатоцитах облученной нерегенерирующей печени (в клетках р.п. он вообще минимален). Через 24—48 час. очень характерной становится ауто- и гетерофагия, сопровождающаяся уменьшением количества интактных л.; л. при этом осуществляют как переваривание поврежденных (гибнущих) участков клетки, так и удаляют структуры, оказывающиеся «ненужными» при дедифференцировке и редифференцировке гепатоцитов. Одновременно интенсифицируется деятельность комплекса Гольджи, выражающаяся как в его гипертрофии, так и в образовании им крупных плотных гранул, которые идентичны л.

Гликоген исчезает уже через 6—12 час. после операции (в этот период начинает интенсивно развиваться г.э.р.). Одновременно с исчезновением гликогена в клетках появляются жировые включения, содержание которых нарастает спустя 24—48 час. В это же время в гепатоцитах часто наблюдается накопление желчи, по-видимому, связанное с «переключением» деятельности л. и «сосредоточением» ее на процессах клеточной репарации и дедифференцировки (в норме, как известно, лизосомы играют значительную роль в образовании и транспорте желчи).

Таким образом, общий характер изменений в гепатоцитах регенерирующей облученной и необлученной печени является сходным; вместе с тем, имеются и существенные различия в сроках наступления структурных перестроек и в их глубине. Степень дедифференцировки и интенсивность репаративных процессов в гепатоцитах о.р.п. выше, чем в р.п. и облученной нерегенерирующей печени (⁸), тем не менее процесс регенерации облученной печени сдвигается во времени. Это несоответствие скорости регенерации органа и интенсивности репарации составляющих его клеток является следствием гибели большого числа гепатоцитов в пределах популяции о.р.п. и большей интенсивности и равномерности повреждения. Кроме того, в процессе регенерации о.р.п. значительная доля энергетики гепатоцитов по-видимому, затрачивается не только на репарацию повреждений, возникших в популяции после операций, но и на ликвидацию радиационных повреждений. Поэтому доля, остающаяся на синтетические процессы, связанные с восполнением клеточной массы, соответственно уменьшается, т. е. клетки о.р.п. в течение значительно большего срока работают на собственную репарацию. Наблюдавшееся ранее нами (⁵) повышение соотношения количества ядерной и цитоплазматической РНК в опыте по сравнению с контролем, указывающее на задержку выхода РНК в цитоплазму (соответственно смещаются и сроки ультраструктурной реорганизации клетки), хорошо объясняется повреждениями ядерных мембран, по-видимому, приводящими к резкому сокращению процессов обмена ядра с цитоплазмой. Эта неспецифическая реакция, несомненно, имеет адапцион-

ный характер. Прежде, чем клетка приступит к активному биосинтезу, из нее должны быть удалены образовавшиеся токсические продукты.

Институт радиационной гигиены
Ленинград

Поступило
19 I 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ R. J. Stenger, D. B. Confer, *Exp. Molec. Pathol.*, **5**, 455 (1966). ² S. Vigh, I. Bartok, *Am. J. Pathol.*, **49**, 5, 825 (1967). ³ М. М. Калашникова, *ДАН*, **144**, № 4, 918 (1962). ⁴ N. L. Bucher, *New England J. Med.*, **277**, 13, 686 (1967). ⁵ И. Б. Токин, Г. Ф. Филимонова, Г. Н. Меркушев, *Арх. Анат.*, № 3, 12 (1971). ⁶ H. Sitte, In: VIII Intern. Anat. Kongress, Symposium III, *Quant. Methoden in den Morphologie*, Wiesbaden, 1965, p. 151. ⁷ I. B. Tokin, G. F. Filimonova, In: *Microscopy Electronique*, **1**, Paris, 1970, p. 651. ⁸ И. Б. Токин, *Арх. анат., гистол. и эмбриол.*, **57**, № 8, 23 (1969).