

Б. С. ДАШЕВСКИЙ, В. Б. КОСТКИН

ФОРМЫ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ ЖИВОТНЫХ В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОЙ ГИПЕРБАРИИ

(Представлено академиком Е. М. Крепом 27 I 1975)

Значительным достижением могут по праву считаться успехи в освоении человеком мирового океана. Однако в настоящее время методом длительных погружений (месячная экспозиция) освоены лишь 100-метровые глубины (¹). Дальнейшее продвижение человека сопряжено с повышенным риском, поэтому необходимы модельные эксперименты на животных, в которых должны быть определены физиологические основы адаптации организма к условиям длительной гипербарии. Особое значение при длительном действии экстремальных факторов, в том числе и гипербарии, приобретает исследование уровня физиологической регенерации органов, изменение которого может лимитировать безопасные экспозиции под давлением. Подобные сведения в доступной литературе отсутствуют. В связи с этим нами было предпринято изучение митотической активности, клеточного состава и содержания ДНК в клетках печени животных в условиях длительного действия повышенного давления, соответствующего максимальным шельфовым глубинам.

В общелабораторных экспериментах использованы 42 половозрелых кролика, самки весом 3–3,5 кг. Основные эксперименты проведены на 16 кроликах, находившихся круглосуточно в барокамере под давлением 35 кг/см² в искусственно регенерируемой гелиокислородной среде. Длительность изопрессии составляла от 12 час. до 33,5 суток. Парциальное давление кислорода в среде составляло 0,3–0,35 ата, температурная зона комфорта поддерживалась в пределах 29–30°. Контрольные эксперименты в барокамере на 8 кроликах ставили с целью исключить действие высокого давления и повышенной плотности газовой среды. Контролем ко всем экспериментам служили 18 интактных кроликов. После ступенчатой декомпрессии животных забивали, кусочки печени фиксировали нейтральным формалином и жидкость Карнуа. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином Караччи и проводили подсчет числа митозов и двуядерных клеток из 3000 гепатоцитов. Ядра одноядерных гепатоцитов, окрашенных по Фельгену, подвергали фотометрии на МУФ-5. После измерения оптической плотности каждого ядра контуры его зарисовывали на бумагу, вырезали и взвешивали. Количество ДНК в клетках определяли, таким образом, как произведение оптической плотности ядра на вес его плоскостного изображения. Для определения степени ploидности гепатоцитов количество ДНК в них сравнивали со стандартным набором ДНК сперматозоидов кроликов. Полученные результаты обрабатывали методом вариационной статистики по Стьюденту – Фишеру.

Изучение препаратов печени интактных кроликов показало, что среднее число митозов составило 3,2%. В основных экспериментах число митозов в печени изменялось, но неодинаково в разных экспозициях животных под давлением. Если при 12-часовой изопрессии митотический индекс статистически достоверно увеличивался на 35%, то после 10–17-суточных опытов число митозов снизилось на 42% по сравнению с интактной группой кроликов. Наибольшее падение количества митозов печеночных кле-

ток было обнаружено в 30-суточных экспериментах, где оно достигало 48% от исходного уровня. Некоторое уменьшение числа митозов печени кроликов в контрольных экспериментах было статистически недостоверным.

Одновременно с падением митотического индекса в печени подопытных животных увеличивалось количество двуядерных гепатоцитов. Если в интактной группе кроликов оно составляло в среднем 14,5%, то в 10–30-суточных экспериментах количество двуядерных гепатоцитов существенно увеличивалось и составляло 23,5%. В контрольных опытах в камере изменения числа двуядерных клеток печени не наступало.

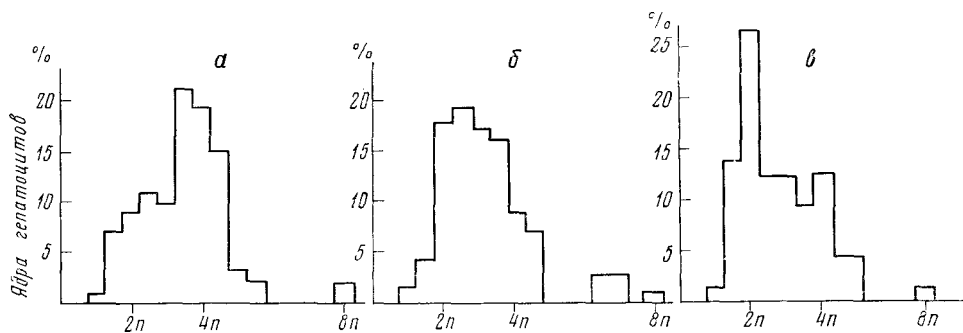


Рис. 1. Распределение ядер гепатоцитов кроликов по классам пloidности в интактной группе (а), после 12-часового пребывания под давлением 35 кг/см² (б), после 30-суточного пребывания под давлением 35 кг/см² (в)

Начиная с 12-часовой изопресии кроликов в основных экспериментах обнаруживалось некоторое снижение количества ДНК в пересчете на одно ядро, однако это уменьшение оказалось статистически недостоверным. В 10–30-суточных опытах в гепатоцитах кроликов отмечалось уже выраженное и достоверное уменьшение количества ДНК ядер почти в 2 раза, при этом оно несущественно отличалось в указанных группах экспериментов.

Большая часть гепатоцитов печени интактных кроликов содержала тетраплоидные и околотетраплоидные ядра, что хорошо видно на рис. 1а. Такое распределение ядер печени в интактной группе по степени пloidности согласуется с данными литературы (2). Уже после 12-часового пребывания кроликов под давлением картина распределения клеток печени по степени пloidности существенно отличалась от интактной группы — удельный вес диплоидных клеток вырос почти в 2 раза, тогда как тетраплоидные ядра составляли всего лишь две трети по сравнению с интактной печенью. В то же время в этой группе увеличилось число ядер с промежуточной — от 2 до 4n — степенью пloidности (рис. 1б).

Еще более выраженные изменения пloidности ядер гепатоцитов произошли после 10–17-суточной экспозиции животных под давлением. Это проявлялось в том, что количество диплоидных ядер увеличивалось по сравнению с интактной группой в 2,4 раза, а число тетраплоидных клеток уменьшилось в 2,3 раза. В этой группе животных уменьшилось также количество ядер с промежуточной степенью пloidности. После 30-суточной экспозиции кроликов под давлением в печени еще более увеличивался процент диплоидных гепатоцитов и отсутствовали октаплоидные ядра (рис. 1в). У всех кроликов в контрольных опытах наблюдались подобные изменения, однако они были статистически недостоверны.

Обнаруженный факт падения митотической активности, увеличения числа двуядерных клеток и данные об уменьшении степени пloidности гепатоцитов кроликов можно, по-видимому, расценивать как результат повышенной функциональной нагрузки печени в условиях длительной ги-

пербарии, так как в литературе имеются сообщения, свидетельствующие о падении митотического индекса, степени плоидности гепатоцитов и увеличении числа двуядерных клеток при повышении функциональной нагрузки печени (^{3,4}).

Вследствие длительной функциональной нагрузки ткани печени кроликов в наших экспериментах, вероятно, следовало ожидать, более быстрого изнашивания клеток, которое должно было бы быть, для обеспечения нормальной работы органа, скомпенсировано повышением уровня физиологической регенерации, обеспечиваемой тремя путями — клеточной пролиферацией, полиплоидизацией гепатоцитов и увеличением числа двуядерных клеток (^{5,6}). Из них первые два в печени в условиях длительной гипербарии оказались подавленными и только третий путь — увеличение числа двуядерных гепатоцитов — был активирован по сравнению с интактными животными. Однако сейчас без дополнительных исследований весьма трудно решить вопрос, насколько полно осуществляется компенсация снижения уровня пролиферации гепатоцитов увеличением числа двуядерных клеток под влиянием действия комплекса факторов гипербарии. Все это дает основание считать, что в условиях длительного (до 1 мес.) действия давления гелиокислородной среды в 35 кг/см² возможности физиологической регенерации печени кроликов существенно сужаются.

Институт эволюционной физиологии и биохимии
им. И. М. Сеченова
Академии наук СССР
Ленинград

Поступило
6 I 1975

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ И. Алинат, В кн.: Нефть и море, Тр. I международн. конгр. по разработке морских нефтяных месторождений, т. 1, М., 1967, стр. 83. ² Л. Н. Жинкин, Арх. анат., гистол. и эмбриол., т. 42, 1, 3 (1962). ³ О. И. Кириллов, Морфофункциональный анализ патофизиологических механизмов неспецифической адаптации организма к изменению уровня мышечной активности. Докт. дисс., Томск, 1973. ⁴ Е. Ф. Котовский, Л. Л. Шимкевич, Функциональная морфология при экстремальных воздействиях, М., 1971. ⁵ В. Я. Бродский, Трофика клетки, 1966. ⁶ С. С. Лагуцев, Вестн. АМН СССР, т. 18, 7, 62 (1963).