

На правах рукописи

МОЛОДЫХ
Ольга Павловна

СТРУКТУРНЫЕ ОСНОВЫ
АДАПТИВНО-КОМПЕНСАТОРНОЙ РЕОРГАНИЗАЦИИ
ПЕЧЕНИ
ПРИ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ
ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

НОВОСИБИРСК – 2002

Работа выполнена в НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН
(Новосибирск)

Научные консультанты:

доктор биологических наук, профессор **Е.Л.ЛУШНИКОВА**
Заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук, профессор **Л.М.НЕПОМНЯЩИХ**

Официальные оппоненты:

Ведущая организация:

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2002 г. в _____ часов на заседании
Диссертационного совета
в
по адресу

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке

Автореферат разослан «_____» _____ 2002 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Способность живых организмов приспосабливаться к меняющимся природным факторам осуществляется посредством различных реакций, развивающихся в органах и тканевых системах. Взаимосвязанность и взаимообусловленность приспособительных реакций сохраняет целостность организма в неблагоприятных условиях внешней среды (Казначеев В.П., 1980, 1987; Авцын А.П. и др., 1985; Саркисов Д.С., 1987, 1993; Пузырев А.А. и др., 1997). При этом в процессе адаптации происходит мобилизация и перераспределение энергетических и пластических ресурсов организма для обеспечения систем, несущих основную нагрузку при действии повреждающего фактора среды (Непомнящих Л.М., 1991, 1998; Лушникова Е.Л., 1993). В случае экстремального воздействия может происходить нарушение коррелятивных связей, что часто приводит к дизадаптации и гибели организма (Шмальгаузен И.И., 1983; Меерсон Ф.З., 1986).

Основное внимание исследователи уделяют физиологическим, биохимическим, этологическим и экологическим аспектам феномена адаптации (Хаскин В.В., 1975; Слоним А.Д., 1982; Хочачка П., Сомеро Дж., 1988). В меньшей степени изучены морфогенетические процессы, происходящие в организме при его адаптации, в частности, к экстремальным экологическим воздействиям; остаются также неясными многие изменения межтканевых, межклеточных и внутриклеточных взаимодействий, составляющих структурную основу адаптации.

Печень, как центральный орган метаболизма, играющий большую роль в пластических и энергетических процессах, включается в адаптивно-компенсаторные реакции организма при всех экзогенных и эндогенных неблагоприятных воздействиях, даже в тех случаях, когда повреждающие факторы не обладают выраженным гепатотропным эффектом. Последний особенно характерен для ряда вирусов (вирусы гепатита), некоторых простейших и гельминтов; лекарственных препаратов, которые метаболизируются в печени. В этой связи интерес исследователей направлен на выявление и изучение структурных и метаболических проявлений повреждений печени, а также регенераторных процессов в этом органе (Логоинов А.С., Аруин Л.И., 1985; Саркисов Д.С., Туманов В.П., 1990; Аруин Л.И., 1995, 1998; Alison M., 1998; Braun K.M., Sandgren E.P., 2000). Установлены основные типы повреждений и регенерации печени и выявлена большая пластичность тканевых и внутриклеточных структур при широком спектре эндогенных и экзогенных воздействий (Бродский В.Я., Урываева И.В., 1981; Урываева И.В., 1997, 2001; Kachi K. et al., 1994; Michalopoulos G.K., Frances M.C., 1997; Gordon G.J. et al., 2000).

Одной из специфических черт регенерации печени является способность гепатоцитов одновременно с пролиферацией выполнять все основные функции, необходимые для гомеостаза

организма (Коломийцева И.К., 1986; Саркисов Д.С., 1994). Сохранение или незначительное нарушение этих функций наблюдаются даже тогда, когда остается всего треть органа, а до 90% оставшихся в печени гепатоцитов проходят пролиферацию. Тем не менее, морфофункциональные нарушения печени могут сопровождаться изменениями процессов восстановления и пластического обеспечения других органов и систем организма в целом.

Исход приспособительных процессов организма в значительной мере зависит от надежности функциональных систем печени, как детоксикационных, так и синтетических, которые связаны с одними и теми же субклеточными структурами гепатоцитов. Именно это обстоятельство обусловило необходимость изучения структурно-функциональных перестроек печени и регенераторных потенциалов гепатоцитов при токсических воздействиях (Солопаев Б.П., 1980; Карташова О.Я. и др., 1983; Ченцов Ю.С., Косых М.И., 1995) и гепатитах различного генеза (Серов В.В., Лапшин К., 1989; Сакута Г.А. и др., 1993, 1996; Горбаков В.В., 1997; Непомнящих Г.И. и др., 1998). Однако структурные и метаболические реакции печени при действии субэкстремальных и экстремальных экологических факторов изучены в недостаточной степени.

Морфогенетические процессы, протекающие в ходе нормального развития или реализующиеся при действии экстремальных факторов среды, характеризуются определенными пространственно организованными событиями. Архитектоника тканей и клеток отражает оптимальную для конкретных условий существования пространственную организацию функций. Выраженные изменения функциональной активности тканевых и клеточных систем сопровождаются их пространственной реорганизацией (Непомнящих Л.М., Лушникова Е.Л., 1989; Loud A.V., 1987), которая, наряду с такими процессами, как пролиферация, дифференцировка, созревание, гипертрофия, определяет особенности регенерации и компенсаторно-приспособительных реакций тканей и клеток. В этом аспекте оценка закономерностей пространственной реорганизации тканевых и клеточных систем имеет большое значение для выяснения регенераторных и адаптивных стратегий, а также направленности морфогенетических процессов.

Цель и задачи исследования. Цель исследования - изучить общие закономерности и особенности структурной реорганизации печени при действии на организм экстремальных факторов среды с оценкой регенераторных стратегий на тканевом, клеточном и внутриклеточном уровнях организации.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи.

1. На основе сравнительного гистостереологического анализа изучить закономерности пространственной тканевой реорганизации печени крыс и мышей при контрастных температурных воздействиях (общем охлаждении и перегревании организма).

2. Выяснить закономерности и особенности внутриклеточной реорганизации гепатоцитов крыс и мышей при контрастных температурных воздействиях.

3. Провести количественную оценку численности популяции гепатоцитов мышей при действии высоких температур.

4. Изучить с использованием методов стереологического анализа тканевую реорганизацию печени мышей при нахождении в гипогеомагнитных условиях

5. Изучить внутриклеточную реорганизацию гепатоцитов мышей при нахождении в гипогеомагнитных условиях.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное морфологическое исследование печени при действии на организм экстремальных экологических факторов (контрастных температур и гипогеомагнитной среды) с выделением адаптивно-компенсаторных и регенераторных стратегий на разных уровнях структурной организации. Установлены стереотипные морфофункциональные изменения печени в этих условиях: мозаичность повреждения гепатоцитов (дистрофия, литические повреждения, некробиоз) и очаговый некроз паренхимы с резорбцией некротизированных гепатоцитов мононуклеарными клетками, развивающиеся на фоне нарушений крово- и лимфообращения.

Закономерностью пространственной реорганизации тканевого микрорайона печени при экстремальных экологических воздействиях, отражающей адаптивно-компенсаторную тканевую стратегию, является диспропорциональный характер изменений объемных плотностей синусоидов и гепатоцитов. При этом в условиях умеренного общего охлаждения и после общего однократного перегревания организма и у крыс, и у мышей происходит уменьшение объемного отношения

синусоидов к гепатоцитам, а при чрезмерном общем охлаждении и действии гипогеомагнитной среды отмечается увеличение этого параметра.

Клеточные адаптивно-компенсаторные стратегии при действии экстремальных экологических факторов проявляются в изменениях ядерно-цитоплазматических отношений, поверхностно-объемных отношений гепатоцитов и их ядер. Поверхностно-объемные отношения гепатоцитов у крыс и мышей при действии экстремальных температур не изменяются или уменьшаются, что свидетельствует о гипертрофии клеток паренхимы. При действии гипогеомагнитной среды поверхностно-объемные отношения гепатоцитов возрастают, что отражает процесс их атрофии.

Впервые показано, что стереотипной реакцией гепатоцитов при действии экстремальных температур (охлаждения и перегревания) на крыс является увеличение ядерно-цитоплазматических отношений при одновременном снижении поверхностно-объемных отношений ядер гепатоцитов, что свидетельствует о гипертрофии ядер и усилении их функциональной активности. У мышей в условиях общего перегревания и действия гипогеомагнитной среды отмечается противоположный характер изменений - ядерно-цитоплазматические отношения уменьшаются, а поверхностно-объемные отношения ядер гепатоцитов возрастают или не изменяются.

Впервые показано, что однократное общее перегревание мышей вызывает снижение (на 13%) общей численности гепатоцитов в печени в течение первых суток, которое обусловлено преимущественно уменьшением концентрации гепатоцитов. В последующие сроки сначала происходит восстановление общей численности паренхиматозных клеток, а затем стойкое снижение. Репаративная регенерация печени на клеточном уровне в данных условиях осуществляется в основном путем деления пула двуядерных клеток, который постепенно истощается, что приводит к растормаживанию стволового резерва с овально-клеточной пролиферацией и последующей дифференцировкой в гепатоциты.

Установлено, что при действии экстремальных экологических факторов (контрастных температур и гипогеомагнитной среды) в гепатоцитах регистрируются ультраструктурные признаки регенераторно-пластической недостаточности. Показано, что адаптивно-компенсаторные стратегии гепатоцитов на внутриклеточном уровне в таких условиях проявляются в диспропорциональных изменениях структурных плотностей основных цитоплазматических органелл, участвующих в процессах биосинтеза и образования энергии.

Сформулировано представление об «атипичной» тканевой и внутриклеточной регенерации печени в условиях экстремальных экологических воздействий, при которой нарушается тканевая и внутриклеточная архитектура. Изменения архитектуры обусловлены диспропорциональными изменениями объемных и поверхностных плотностей основных тканевых и цитоплазматических компарментов.

Практическая значимость. Полученные результаты раскрывают закономерности тканевых, клеточных и внутриклеточных изменений в печени экспериментальных животных, подвергающихся действию некоторых экстремальных экологических факторов, и могут быть использованы для разработки морфофункциональных диагностических и прогностических критериев состояния печени при экстремальных воздействиях.

Результаты работы имеют фундаментальное значение в плане выяснения особенностей и закономерностей тканевой, клеточной и внутриклеточной реорганизации печени в условиях экстремальных экологических воздействий и показывают важность комплексного изучения происходящих изменений на всех уровнях структурной организации.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены на научной конференции молодых ученых СО РАМН (Новосибирск, 1996); 2-м и 3-м Съездах физиологов Сибири и Дальнего Востока (Новосибирск, 1995, 1997); 7-й и 8-й научно-практических конференциях «Актуальные вопросы современной медицины» (Новосибирск, 1997, 1998); научной конференции «Основные направления формирования здоровья человека на Севере» (Красноярск, 1999); заседании Проблемной комиссии «Морфология» (Новосибирск, 2000); VI Всероссийской конференции по патологии клетки (Москва, 2000); заседании Ученого совета НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН (Новосибирск, 2001); межлабораторной научной конференции Научного центра клинической и экспериментальной медицины СО РАМН (Новосибирск, 2002).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 29 работ. В периодических научных изданиях, рекомендуемых ВАК Минобрнауки России для публикации материалов докторской диссертации, опубликовано 14 статей.

Структура и объем диссертации. Содержание диссертации изложено на 300 стр. машинописного текста. Диссертация состоит из введения, обзора литературы (1 глава), характеристики материала и методов исследования (1 глава), собственных исследований (3 главы), обсуждения полученных результатов (1 глава), выводов и списка литературы (393 источников). Диссертация иллюстрирована 37 таблицами и 82 рисунками (микрофотографиями и электронограммами).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Комплексный морфологический анализ печени экспериментальных животных проводили при контрастных (экстремальных) температурных воздействиях (общем охлаждении и однократном общем перегревании организма) и в условиях экранирования магнитного поля Земли (гипогеомагнитном воздействии). Эксперименты проведены на крысах линии Вистар и мышах линии СВА; во всех экспериментах использованы половозрелые самцы.

I. Общее охлаждение организма. В первую экспериментальную группу (умеренное охлаждение) входило 66 крыс-самцов линии Вистар в возрасте 5 мес (из них 23 животных служили контролем). Опытных животных содержали постоянно при температуре 3 - 4°C в индивидуальных клетках без ограничения доступа к воде и пище в течение 6 и 8 нед, после чего их забивали декапитацией. Во вторую экспериментальную группу (чрезмерное охлаждение) также входило 66 крыс-самцов линии Вистар в возрасте 4 мес (из них 22 животных служили контролем). Опытных животных содержали в термальной камере (при -7°C) в индивидуальных клетках постоянно, исключая время кормления. Время пребывания в термальной камере при выбранном режиме охлаждения определялось выживаемостью животных. Максимальный срок пребывания ограничивался 16 сутками, после чего наблюдалась массовая гибель животных. Исходя из этого длительность экспозиции составила 8 и 16 сут, сразу после окончания опыта крыс забивали декапитацией.

II. Воздействие однократного общего перегревания (при 42 - 43°C). В этой экспериментальной группе использованы 36 крыс-самцов линии Вистар в возрасте 2 мес (из них 9 животных служили контролем) и 44 мыши-самца линии СВА (из них 8 животных служили контролем) в возрасте 3 мес. Время экспозиции животных при высоких температурах определялось выживаемостью и соответствовало предельному сроку, после которого отмечалась их массовая гибель. Исходя из этого, крысы находились в термальной камере в течение 45 мин, мыши - в течение 35 мин. Забор материала для морфологического исследования осуществляли сразу после перегревания, на 3-и, 7-е и 14-е сутки после перегревания путем декапитации животных.

Контрольных животных во всех сериях экспериментов содержали в обычных условиях вивария на стандартном лабораторном корме и при свободном доступе к воде.

III. Воздействие гипогеомагнитного поля. Гипогеомагнитные условия моделировали с помощью ферромагнитного экрана, разработанного в Сибирском НИИ метрологии для биофизических исследований. Экран состоял из двух секций, каждая из которых набрана из 6 пермалловых пластин толщиной 1,5 мм, между которыми проложены медные пластины. Пермалловые пластины служат для экранирования биологических объектов от постоянных и переменных низкочастотных магнитных полей, а медные пластины предназначены для экранирования исследуемого объекта от электромагнитных полей промышленного происхождения. Использованный ферромагнитный экран позволяет снижать напряженность магнитного поля Земли (50×10^{-6} Тл) до 50×10^{-11} Тл. Опыты проведены на 52 мышах-самцах линии СВА (из них 26 - опытные, 26 - контрольные).

Животных подвергали воздействию гипогеомагнитного поля (нахождение в соответствующей гипомагнитной камере) с коэффициентом ослабления в 10^2 раз в течение 30 мин и 1 ч; с коэффициентом ослабления в 10^5 раз в течение 30 мин, 1, 3, 6 и 24 ч. Контрольных (интактных) животных содержали в деревянных пеналах в течение того же времени. Животных опытных и контрольных групп выводили из опыта одновременно декапитацией.

Методы светооптического и электронно-микроскопического исследования. Животных декапитировали в первой половине дня. После вскрытия грудной и брюшной полостей производили макроскопическое обследование внутренних органов. Печень осторожно отделяли от окружающих тканей, быстро взвешивали и проводили визуальное обследование.

Кроме образцов печени, у каждого животного для гистологического исследования брали образцы тканей сердца, легких, почек, надпочечников, селезенки и желудка. Ткань фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина при комнатной температуре не менее 2 сут. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином с постановкой реакции Перлса, по методу ван Гизона с докраской эластических волокон резорцин-фуксином Вейгерта, ставили PAS-реакцию.

Для электронно-микроскопического исследования образцы печени размерами не более 1 мм³ первоначально фиксировали в 4%-ном растворе параформальдегида на буфере Миллонига. Материал постфиксировали в 1% растворе четырехоксида осмия на том же буфере в течение 2 ч на холоду, затем обезвоживали в серии спиртов возрастающей концентрации и заливали в смесь эпона и аралдита.

Полутонкие (1 мкм) и ультратонкие срезы получали на ультратоме LKB-III. Полутонкие срезы окрашивали капельным способом 1% раствором азура II. Полутонкие срезы использовали для морфологического исследования и стереологического анализа.

Ультратонкие срезы контрастировали в насыщенном спиртовом растворе уранилацетата и цитратом свинца. Исследовали ультратонкие срезы в электронных микроскопах JEM 100C и JEM 1010 при ускоряющем напряжении 40 и 80 кВ.

Методика стереологического и информационного анализа. Стереологический анализ проводили с использованием хорошо разработанных методик (Автандилов Г.Г. и др., 1981; Непомнящих Л.М. и др., 1984; Weibel E.R., 1969), основанных на подсчете числа точек тестовой системы, попавших на профиль исследуемой структуры (P_i), и числа пересечений тестовой линии с границами этой структуры (C_i). Для подсчетов применяли многоцелевую тестовую систему - решетку, состоящую из коротких отрезков, в которой отрезок тестовой линии являлся стороной ромба (Weibel E.R. et al., 1966, 1969; Crus-Orive L.M., Weibel E.R., 1990). Для оценки тканевых параметров анализировали неперекрывающиеся поля зрения при увеличении 1320. Вычисляли относительные и абсолютные стереологические параметры.

Оценивали объемную плотность (относительный объем) гепатоцитов, ядер гепатоцитов, синусоидов, эндотелиальных клеток, клеток соединительной ткани без их дифференциации и суммарно основного вещества и волокон соединительной ткани. Поверхностную плотность (относительную площадь поверхности) определяли для следующих структур: гепатоцитов, ядер гепатоцитов, синусоидных капилляров, клеток соединительной ткани.

На основании первичных стереологических параметров рассчитывали вторичные, описывающие количественные взаимоотношения между различными компонентами стромы и паренхимы: поверхностно-объемное отношение структур, объемное отношение стромы к паренхиме, отношение объема синусоидов к объему гепатоцитов и поверхностно-объемное отношение синусоидов к гепатоцитам.

Ультраструктурный стереологический анализ гепатоцитов проводили на негативах при конечном увеличении в 20000 раз (первоначальное увеличение 8000 раз). Оценивали объемную плотность митохондрий, агранулярной эндоплазматической сети (АЭС), гранулярной эндоплазматической сети (ГЭС). Поверхностную плотность определяли для митохондрий, ГЭС и АЭС. На основании первичных стереологических параметров рассчитывали вторичные - объемные и поверхностно-объемные отношения основных ультраструктур.

Для оценки направленности и интенсивности тканевых и внутриклеточных изменений печени проводили информационный анализ, используя общепринятые формулы (Леонтьук А.С. и др., 1981; Автандилов Г.Г., 1990).

Структурную (информационную) энтропию вычисляли по формуле Шеннона:

Рассчитывали также относительную энтропию (h) и коэффициент избыточности (R).

Методика определения общей численности популяции гепатоцитов. Использован метод щелочной диссоциации фиксированных тканей (Бродский В.Я. и др., 1983; Семенова Л.А. и др., 1985), обеспечивающий полный выход клеток в суспензию и не меняющий существенно их морфологические и тинкториальные особенности.

Из печени, зафиксированной в 10% нейтральном формалине в течение не менее 10 сут, вырезали пластинку толщиной около 1 мм. Определяли массу вырезанного образца, который затем помещали в 50% раствор КОН на 20 - 24 ч (время диссоциации ткани в щелочном растворе зависело от

длительности предшествующей фиксации, величины и плотности образца). Затем образец промывали в 3 - 4 сменах дистиллированной воды и в последней порции (объемом около 4 мл) оставляли на 1 сут. В полученную суспензию добавляли по каплям 1% раствор азура-эозина и доводили объем до 8 мл.

Подсчет числа клеток производили в камере Фукса-Розенталя. Одновременно заполняли 5 камер, в каждой из которых находилось два стабильных по объему отдела. Концентрацию клеток рассчитывали по формуле:

где s - число клеток в 1 мг ткани, A - среднее число клеток в отделе камеры, $3,2 \times 10^{-3}$ - объем отдела (мм^3), m - масса образца (мг), V - конечный объем суспензии (мл). Концентрацию клеток определяли в десяти повторах. Рассчитывали также абсолютное число клеток.

Статистическая обработка результатов включала нахождение средних значений изучаемых параметров, вычисление дисперсии и ошибок средних. Вопрос о значимости различий решался с помощью критерия Стьюдента (Урбах В.Ю., 1975).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Тканевая реорганизация печени при экстремальных экологических воздействиях (контрастных температурах и гипогеомагнитных условиях).

Температурные воздействия. Контрастные температурные воздействия вызывали различную направленность в изменениях массы тела и массы печени животных. Чрезмерное охлаждение в течение 16 сут привело к достоверному увеличению относительной массы печени на 12% ($p < 0.05$), аналогичная тенденция наблюдалась при нахождении крыс в течение 6 нед при умеренном охлаждении - относительная масса печени увеличивалась на 22% ($p < 0.05$). Однако при чрезмерном охлаждении увеличение относительной массы печени к 16-м суткам эксперимента происходило за счет достоверного снижения массы тела животных (на 16%, $p < 0.05$), а при умеренном охлаждении в течение 6 нед - за счет достоверного увеличения массы печени (на 24%, $p < 0.01$). При воздействии высоких температур существенных изменений абсолютной и относительной массы печени зафиксировано не было.

Общее охлаждение организма. Тканевые изменения печени при общем умеренном и чрезмерном охлаждении носили стереотипный характер: на фоне нарушений гемодинамики развивались повреждения гепатоцитов, обусловившие мозаичность окрашивания паренхимы печени кислыми красителями. Наряду с гепатоцитами с неизменными тинкториальными свойствами выявлялись клетки с выраженной эозинофильной окраской цитоплазмы, а также гепатоциты с просветленной цитоплазмой. Однако для каждого срока эксперимента эти изменения выражались в разной степени, отмечены также особенности, характерные для конкретного вида охлаждения.

Выявленные морфологические реакции носят неспецифический характер и наблюдались в печени животных при токсических поражениях печени ксенобиотиками (бензолом, ди- и трихлорпропаном, CCl_4) (Бонашевская Т.И., 1977), у грызунов, обитающих на территориях с повышенным уровнем радиации (Пинчук В.Г. и др., 1991; Шишкина Л.Н. и др., 1992; Материй Л.Д. и др., 1993; Маслова К.И. и др., 1994).

По современным представлениям, мозаичность повреждения паренхиматозных клеток определяется гетерохронностью развивающихся в ткани изменений в результате цитопатических или стрессорных воздействий, а также асинхронностью клеточных циклов и перемежающейся функциональной активностью (Саркисов Д.С., 1977; Пузырев А.А. и др., 1997). Поэтому в печени наряду с деструктивно измененными гепатоцитами выявляются клетки в стадии внутриклеточной регенерации, а также на различных уровнях функциональной активности.

При умеренном общем охлаждении при сохранении общего строения печени отмечалось увеличение количества гепатоцитов с литическими повреждениями. У части животных наблюдалась значительная разреженность перинуклеарной зоны, пикноз ядер. В гепатоцитах с нормальными тинкториальными свойствами отмечена выраженная гипертрофия ядер гепатоцитов, особенно на 6-й

неделе охлаждения, в том числе и за счет огромных липидных включений. Следует отметить выраженный полиморфизм ядер гепатоцитов.

Умеренное холодное воздействие в течение 6 нед привело к увеличению выработки липидов, что выражалось в обилии липидных капель в цитоплазме с преимущественным их накоплением на синусоидальных полюсах. Липидные включения наблюдались в ядрах гепатоцитов, а также в небольших количествах в клетках Ито. К 8-й неделе эксперимента происходило существенное перераспределение липидов - в цитоплазме гепатоцитов их содержание существенно снижалось, в то время как в клетках Ито их содержание возрастало, наблюдалась значительная гипертрофия этих клеток.

На 8-й неделе умеренного охлаждения по сравнению с предыдущим сроком нарастала интенсивность литических повреждений гепатоцитов, увеличивались размеры очагов некроза паренхимы, которые были инфильтрированы мононуклеарами. Усиливалась также мононуклеарная инфильтрация стромы и портальных трактов. Сохранялся выраженный полиморфизм ядер гепатоцитов и их гипертрофия. В оба срока эксперимента отмечено уменьшение числа двуядерных клеток (от $8.9 \pm 0.8\%$ в контроле до 6.3 ± 0.9 и $6.9 \pm 0.9\%$ соответственно через 6 и 8 нед общего охлаждения).

При чрезмерном охлаждении отмечалась аналогичная тенденция: на 8-е и 16-е сутки охлаждения зафиксировано выраженное увеличение размеров ядер и присутствие в ядрах липидных включений. Через 8 сут охлаждения отмечено снижение числа двуядерных гепатоцитов (от $7.4 \pm 2.5\%$ в контроле до $5.6 \pm 0.4\%$), что свидетельствовало об угнетении регенераторных процессов. К 16-м суткам выявлено усиление литических повреждений гепатоцитов, в некоторых случаях наблюдался мощный некроз участков паренхимы и формирование в очагах некроза мононуклеарных инфильтратов; происходило усиление склеротических процессов. При чрезмерном общем охлаждении зарегистрированы более выраженные, чем при умеренном охлаждении, нарушения гемодинамики - полнокровие вен и синусоидов, отек стромы портальных трактов.

Выявленные в печени морфофункциональные изменения не вызваны снижением температуры тела, а обусловлены общим адаптационным синдромом и перераспределением пластических и энергетических ресурсов для достижения оптимального уровня теплопродукции. Известно, что одним из важнейших событий температурной адаптации гомойотермных животных к условиям охлаждения является сократительный термогенез с вовлечением в этот процесс различных типов мышц. Происходит повышение метаболической активности мышечной ткани, усиление биосинтетических процессов в мышечных волокнах, которые требуют притока большого количества пластических веществ.

В другом важнейшем событии, регистрируемом при температурной адаптации гомойотермных животных в условиях охлаждения, - несократительном термогенезе - основную роль играют бурая жировая ткань и печень (Himms-Hagen J., 1990, 1999; Himms-Hagen J., Harper M.E., 1999; Scarpace P.J. et al., 1994, 1996; Scarpace P.J., 1997). Происходит усиление биосинтетических процессов, повышение метаболической активности, которые также требуют притока большого количества пластических веществ (Collins S., Surwit R.S., 2001; Golozoubova V. et al., 2001).

В результате усиления термогенеза и перераспределения пластических веществ при общем охлаждении организма в печени замедляются регенераторные процессы и постепенно снижается тканеспецифический белковый синтез. Это приводит к развитию дистрофических и некробиотических повреждений гепатоцитов и реактивным изменениям со стороны соединительной ткани.

Изменения пространственной организации тканевого микрорайона печени при низких температурах носили в основном стереотипный характер. При общем охлаждении животных зарегистрировано увеличение объемной и по-верхностной плотности ядер гепатоцитов (соответственно на 37 и 19%, $p < 0.05$ через 6 нед умеренного охлаждения и на 30 и 22% через 8 сут чрезмерного охлаждения). Это обусловило достоверное снижение их поверхностно-объемного отношения в обеих моделях (соответственно на 14 и 7%) и свидетельствовало о гипертрофии и усилении функциональной активности ядер.

При чрезмерном и умеренном охлаждении выявлены однонаправленные изменения ядерно-цитоплазматических отношений в гепатоцитах (рис. 1): происходило достоверное увеличение ядерно-цитоплазматического отношения - на 6-8-й неделе умеренного охлаждения соответственно на 32 и

14% ($p < 0.05$), и на 8-16-е сутки чрезмерного охлаждения - соответственно на 33 ($p < 0.01$) и 19% ($p < 0.05$).

Важным моментом пространственной реорганизации тканевого микрорайона печени при умеренном общем охлаждении было достоверное уменьшение объемной (соответственно на 31 и 23% через 6 и 8 нед эксперимента) и поверхностной (на 24 и 10%) плотности синусоидов. Это приводило к достоверному снижению объемного отношения синусоидов к гепатоцитам через 6 и 8 нед охлаждения (соответственно на 35 и 26%, $p < 0.05$) (рис. 2), а также уменьшению поверхностно-объемного отношения синусоидов к гепатоцитам (соответственно на 28 и 13%).

Особенностью умеренного охлаждения являлось также достоверное снижение объемного отношения стромы к паренхиме - соответственно на 28 и 22% ($p < 0.05$) на 6-й и на 8-й неделях эксперимента (рис. 3).

При чрезмерном общем охлаждении организма отмечена тенденция к увеличению объемной и поверхностной плотности синусоидов, что обусловило увеличение объемного (на 14%) и поверхностно-объемного (на 21%, $p < 0.05$) отношения синусоидов к гепатоцитам через 16 сут воздействия. Следует также отметить достоверное увеличение объемной плотности неклеточной компоненты соединительной ткани через 16 сут эксперимента (на 43%, $p < 0.05$) и тенденцию к увеличению объемной плотности клеток соединительной ткани в этот же срок. Такие изменения основных компонентов стромы обусловили увеличение (на 21%) стромально-паренхиматозного отношения к 16-м суткам чрезмерного общего охлаждения (см. рис. 3).

Общее перегревание организма. Наиболее выраженные морфофункциональные изменения в печени мышей линии СВА и крыс Вистар наблюдались на 3-и сутки после однократного общего перегревания. Отмечались значительные изменения гемодинамики в виде полнокровия вен и синусоидных капилляров, на фоне которых развивались дистрофические и некробиотические повреждения гепатоцитов. Следует отметить усиление регенераторной активности отдельных гепатоцитов в этот срок - появление двуядерных гепатоцитов в состоянии митоза с четко оформленным хроматином в виде жгутов, а также слияние ядер.

На 7-е сутки происходило в основном восстановление гистологического строения печени, но выявлялись крупные очаги атрофированных гепатоцитов, окруженные мононуклеарными клетками, преимущественно макрофагами. В строме портальных трактов и в очагах некроза отмечалось увеличение количества фибробластов. Вблизи желчных протоков выявлялись светлые овальные клетки, сходные с эпителиоцитами желчных протоков, формирующие цепочки, - наблюдалась овально-клеточная пролиферация.

К 14-м суткам посттепловой реституции в перипортальной зоне происходило увеличение количества крупных очагов мононуклеарных инфильтратов, окружавших дегенерирующие гепатоциты. В строме портальных трактов и в очагах некроза фиксировалось большое количество фибробластов, имеющих крупное длинное веретеновидное ядро. Наблюдалось усиление регенераторной активности двуядерных гепатоцитов в виде формирования хроматиновых нитей и сближения ядер.

Пространственная реорганизация тканевого микрорайона печени наиболее существенные изменялась на 3-и сутки после перегревания животных обоих видов. У крыс Вистар в этот срок происходило достоверное увеличение объемной плотности гепатоцитов (на 5%, $p < 0.05$), аналогичная тенденция наблюдалась и у мышей линии СВА. Снижение поверхностно-объемного отношения гепатоцитов у крыс Вистар на 16% ($p < 0.05$), а у мышей линии СВА на 10% свидетельствовало об увеличении их размеров (гипертрофии). У мышей линии СВА к 3-м суткам после эксперимента было выявлено достоверное снижение ядерно-цитоплазматического отношения (на 15%, $p < 0.05$) (см. рис. 1). У крыс Вистар отмечена тенденция к увеличению ядерно-цитоплазматического отношения в течение эксперимента.

Снижение объемной (на 8%) и поверхностной (на 26%, $p < 0.05$) плотности синусоидов у крыс Вистар и достоверное увеличение объемной плотности гепатоцитов через 3 сут после перегревания обусловили достоверное ($p < 0.05$) уменьшение объемного (на 13%) и поверхностно-объемного (на 29%) отношения синусоидов к гепатоцитам. У мышей линии СВА в этот же срок достоверно уменьшалась объемная плотность синусоидов (на 17%, $p < 0.05$), что приводило к достоверному

уменьшению объемного отношения синусоидов к гепатоцитам (на 20%, $p < 0.05$) (см. рис. 2). Поверхностно-объемное отношение синусоидов к гепатоцитам у мышей достоверно не менялось.

Уменьшение объемной плотности основных компонентов стромы - синусоидов, клеток, волокон и основного вещества соединительной ткани - как у крыс, так и у мышей через 3 сут после перегревания обусловило достоверное снижение объемного отношения стромы к паренхиме (соответственно на 23 и 18%, $p < 0.05$) (см. рис. 3).

Следует заметить, что на 7-е сутки после перегревания основные стереологические показатели у мышей линии СВА приближались к норме, в то время как у крыс линии Вистар было зафиксировано усиление процессов тканевой перестройки. У них отмечалось достоверное уменьшение объемной (на 4%, $p < 0.05$) и поверхностной (на 18%, $p < 0.05$) плотности гепатоцитов, что было обусловлено усилением дистрофических и некробиотических процессов. У животных обоих видов к 7-м суткам не происходило достоверного изменения объемного отношения стромы к паренхиме. Следует отметить, что у крыс Вистар через 7 сут после перегревания возрастала объемная плотность синусоидов (на 20%, $p < 0.05$), что приводило к достоверному увеличению объемного отношения синусоидов к гепатоцитам (на 24%, $p < 0.05$). На 14-е сут после перегревания основные количественные показатели тканевого микрорайона печени у мышей линии СВА находились на уровне контрольных значений.

Количественная оценка популяции гепатоцитов у мышей линии СВА выявила достоверное снижение (на 13%) их общей численности через 30 мин после перегревания с последующим ее восстановлением, хотя следует заметить, что численность гепатоцитов оставалась сниженной до конца эксперимента (на 12%). Изменение численности двуядерных гепатоцитов носило волнообразный характер: достоверное снижение уровня двуядерных гепатоцитов было зафиксировано через 30 мин и 14 сут посттепловой реституции (соответственно на 24 и 26%, $p < 0.01$) с восстановлением их количества на 3-7-е сутки.

Снижение численности двуядерных гепатоцитов в определенные сроки эксперимента свидетельствует о том, что именно эта популяция гепатоцитов является основным резервом для восстановления общей численности паренхиматозных клеток. Однако сохраняющаяся тенденция к снижению общего числа гепатоцитов приводит к растормаживанию стволового резерва - овально-клеточной пролиферации с последующей дифференцировкой в гепатоциты.

Согласно современным представлениям, в печени млекопитающих имеются две популяции клеток, которые по многим свойствам сходны со стволовыми клетками быстро обновляющихся тканей и обеспечивают регенерацию паренхимы при различных воздействиях (Урываева И.В., 2001; Gordon J. et al., 2000; Lasoni E., 2000). К ним относятся (1) унипотентные коммитированные клетки-предшественники (дифференцированные гепатоциты и билиарный эпителий) и (2) мультипотентные непаренхимные клетки-предшественники (овальные клетки - недифференцированные клетки). Роль факультативного стволового компартмента при нормальной регенерации паренхимы печени невелика. Считается, что в стволовых клетках происходит преходящая экспрессия необходимых факторов роста, которая недостаточна для реактивации стволового компартмента, но может индуцировать репликацию гепатоцитов. Вероятно, после однократного общего перегревания организма пролиферативный потенциал гепатоцитов снижается, и они не могут адекватно отвечать на митотические стимулы. Однако продолжающаяся экспрессия ростовых факторов способствует активации латентных стволовых клеток, начинается их размножение и дифференцировка в гепатоциты (Thorgerisson S.S., 1996). Впоследствии основная часть овальных клеток регрессирует и не играет существенной роли в регенерации печени, что мы и наблюдали в наших исследованиях.

Анализ информационных показателей тканевого микрорайона печени крыс выявил разный характер их изменений при умеренном и чрезмерном охлаждении. При умеренном общем охлаждении организма отмечена тенденция к снижению энтропии печени как тканевой системы и увеличение коэффициента избыточности. При чрезмерном общем охлаждении обнаружена противоположная тенденция - увеличение энтропии печени и снижение коэффициента избыточности. Увеличение энтропии и относительной энтропии свидетельствует об увеличении неупорядоченности структурной организации печени или увеличении структурного разнообразия. В большей степени эти характеристики были увеличены через 16 сут чрезмерного общего охлаждения. Именно в этот период происходило снижение коэффициента избыточности, что свидетельствовало о снижении надежности структурно-функциональной организации печени.

Информационный анализ тканевой организации печени у крыс Вистар и мышей линии СВА после однократного перегревания выявил незначительное снижение энтропии и относительной энтропии в первые 3 сут, что указывало на тенденцию к снижению интенсивности морфогенетических процессов и структурного разнообразия. Одновременно отмечено незначительное увеличение коэффициента избыточности, свидетельствующее о повышении надежности развивающихся структурно-функциональных изменений. Затем энтропия начинала нарастать и к концу эксперимента превышала контрольный уровень, коэффициент избыточности снижался.

Гипогеомагнитные воздействия. Тканевые изменения печени у мышей линии СВА при гипогеомагнитном воздействии проявлялись, прежде всего, в нарушениях крово- и лимфообращения в виде синусоидального и венозного полнокровия. По мере увеличения сроков содержания животных в гипогеомагнитной камере (к концу суток) эти изменения усиливались, сопровождаясь очаговым лизисом паренхиматозных клеток. Следует отметить выраженный полиморфизм ядер гепатоцитов, который нарастал к концу эксперимента: наряду с мелкими ядрами в гепатоцитах (обычно двуядерных) наблюдались гигантские ядра. Как правило, ядрышки в таких клетках были мелкими, количество их достигало 5.

По результатам тканевого стереологического анализа, в пространственной организации тканевого микрорайона печени мышей при содержании в гипогеомагнитных условиях в течение 3, 6 и 24 ч обнаружены существенные изменения. После 3-часового содержания в гипогеомагнитной камере у животных зарегистрировано достоверное увеличение объемной и поверхностной плотности синусоидов (на 59%, $p < 0.01$ и 89%, $p < 0.05$, соответственно), что обусловило возрастание объемного (см. рис. 2) и поверхностно-объемного отношения синусоидов к гепатоцитам. Одновременно произошло уменьшение объемной плотности клеток (на 16%), а также волокон и основного вещества соединительной ткани (на 49%, $p < 0.01$).

Через 6 ч эксперимента пространственная организация микрорайона печени изменялась более существенно. Отмечалось достоверное снижение объемной плотности ядер гепатоцитов (на 35%, $p < 0.01$) и ядерно-цитоплазматического отношения (на 34%, $p < 0.01$) (рис. рис. 1); поверхностно-объемное отношение ядер гепатоцитов, наоборот, возрастало (на 45%). Выявлено дальнейшее увеличение объемной и поверхностной плотности синусоидов (соответственно на 228 и 135%, $p < 0.01$), и, как следствие, достоверное увеличение поверхностно-объемного и объемного отношения синусоидных капилляров к гепатоцитам (соответственно на 143 и 242%, $p < 0.05$). Следует отметить для этого срока эксперимента значительное снижение объемной и поверхностной плотностей соединительнотканых клеток (соответственно на 62 и 75%, $p < 0.01$), а также объемной плотности волокон и основного вещества соединительной ткани (на 54%, $p < 0.05$).

Наиболее существенные изменения пространственной организации тканевого микрорайона печени отмечены через 24 ч пребывания мышей в гипогеомагнитной камере. Зарегистрировано достоверное увеличение объемной (на 5%, $p < 0.05$) и поверхностной (на 24%, $p < 0.05$) плотностей гепатоцитов, а также их поверхностно-объемного отношения (на 18%, $p < 0.05$). Достоверно были снижены объемная (на 26%, $p < 0.05$) и поверхностная (на 14%, $p < 0.05$) плотности ядер гепатоцитов. Достоверно уменьшалось ядерно-цитоплазматическое отношение (на 31%, $p < 0.05$). Это может свидетельствовать о снижении функциональной активности ядерного аппарата в результате гипогеомагнитного воздействия. При этом следует отметить достоверное увеличение численности двуядерных гепатоцитов в этот срок гипогеомагнитного воздействия (от $14.7 \pm 0.4\%$ в контроле до $20.8 \pm 1.3\%$, $p < 0.05$).

Объемная и поверхностная плотности синусоидов оставались увеличенными, что определяло возрастание объемного и поверхностно-объемного отношения синусоидов к гепатоцитам (соответственно на 25 и 100%, $p < 0.01$).

После 24 ч эксперимента объемная и поверхностная плотности клеток соединительной ткани, а также объемная плотность волокон и основного вещества соединительной ткани оставались достоверно сниженными (соответственно на 57, 41 и 49%, $p < 0.05$). Вследствие этого происходило достоверное снижение (на 31%, $p < 0.05$) объемного отношения стромы к паренхиме (см. рис. 3), что было характерно только для этого срока наблюдения.

Таким образом, изменения взаимоотношений между синусоидами и гепатоцитами, стромой и паренхимой, свидетельствуют о нарастании процессов реорганизации тканевого микрорайона печени у животных при гипогеомагнитном воздействии.

Информационный анализ тканевой организации печени мышей линии СВА, находившихся в гипогеомагнитных условиях, выявил уменьшение энтропии и относительной энтропии через 30 мин, 3 и 24 ч ($p < 0.05$) опыта. В эти же сроки возрастал коэффициент избыточности. Эти данные свидетельствуют о том, что при геомагнитной депривации проявлялась тенденция к снижению структурного разнообразия.

Сопоставление информационных характеристик и стереологических показателей при экстремальных экологических воздействиях, в частности, такого, как объемное отношение стромы к паренхиме, позволило выявить некоторые закономерности морфогенеза адаптивных реакций. Снижение энтропии, а следовательно, и структурного разнообразия тканевого микрорайона печени при общем умеренном охлаждении, в начальный период посттепловой реституции (3 сут) и при гипогеомагнитном воздействии определялось снижением объемной плотности компонентов соединительной ткани и всегда коррелировало с уменьшением объемного отношения стромы к паренхиме. Наоборот, увеличение энтропии (и структурного разнообразия) при чрезмерном общем охлаждении и в поздние сроки посттепловой реституции было обусловлено возрастанием объемной плотности компонентов соединительной ткани и коррелировало с увеличением объемного отношения стромы к паренхиме.

Таким образом, компонентам стромы (синусоидам и соединительнотканым структурам) принадлежит ведущая роль в изменениях структурного разнообразия тканевого микрорайона печени. Увеличение структурного разнообразия сопряжено с усилением склеротических процессов, а уменьшение - со снижением десмопластических процессов и трофической функции соединительной ткани.

С биологической точки зрения, обе тенденции в изменении структурного разнообразия являются нежелательными, так как в обоих случаях нарушаются оптимальные коррелятивные связи между элементами стромы и паренхимы, характерные для определенных периодов онтогенеза. Тем не менее, известно, что склерозирование ткани представляет собой более неблагоприятный исход. Проведенное исследование позволяет рассматривать увеличение энтропии тканевой системы в качестве прогностического критерия развития склеротических процессов.

В целом результаты исследования свидетельствуют о том, что экстремальные экологические воздействия вызывают значительные изменения паренхиматозно-стромальных взаимоотношений в печени и нарушают сложившиеся ранее коррелятивные связи между структурными элементами паренхимы и стромы на уровне тканевого микрорайона. Вероятно, характер регенераторных процессов в печени, вызывающих изменение пространственной тканевой организации, можно классифицировать как своеобразную субституцию или «атипичную» регенерацию, при которых нарушается тканевая архитектура.

Внутриклеточная реорганизация гепатоцитов при экстремальных экологических воздействиях.

Температурные воздействия. Характерной особенностью внутриклеточной реорганизации гепатоцитов крыс и мышей при экстремальных температурных воздействиях было нарушение регенераторно-пластических процессов.

По данным электронно-микроскопического исследования, после 6 нед умеренного охлаждения ультраструктурные изменения гепатоцитов проявлялись прежде всего в вакуолизации агранулярной и гранулярной ЭС (с редукцией рибосомного аппарата), в результате чего цитоплазма таких гепатоцитов приобретала ячеистый вид. В отдельных гепатоцитах, наоборот, наблюдались мощные стопки цистерн гранулярной ЭС с лакунообразными расширениями, что свидетельствовало об их значительной белоксинтезирующей функции.

На 8-й неделе эксперимента отмечалась тенденция к нормализации тонкой структуры гепатоцитов по сравнению с 6-й неделей - регистрировалось обилие цистерн гранулярной ЭС, хотя они оставались укороченными, рибосомный аппарат был хорошо развит, вакуолизация канальцев агранулярной ЭС была менее выражена. Значительно изменялся метаболизм гликогена - наблюдались мощные электронно-прозрачные участки его лизиса, а также значительная трансформация гликогена и липидных капель с образованием миелопоподобных структур, по размерам сопоставимых с

митохондриями. В результате усиления катаболических процессов интенсифицировались процессы аутофагии с образованием на синусоидальных полюсах остаточных телец (миелиноподобных структур), которые выводились в пространство Диссе, на билиарном полюсе регистрировались вторичные лизосомы, содержавшие липофусцин.

Более значительные изменения тонкой структуры гепатоцитов происходили при чрезмерном охлаждении. На 8-е сутки чрезмерного охлаждения в гепатоцитах зафиксированы фрагментация и редукция цистерн гранулярной ЭС, а также редукция рибосомного аппарата, что свидетельствовало о снижении белоксинтезирующей функции клеток. На 16-е сутки отмечены значительные изменения в ядерном аппарате гепатоцитов: инвагинации ядерной мембраны, а также локализация ядер вдоль цитолеммы. Усиление катаболических процессов сопровождалось накоплением аутофагосом в перинуклеарной зоне. Происходила значительная вакуолизация агранулярной ЭС и аппарата Гольджи, особенно на терминальных участках диктиосом, что было характерно и для умеренного охлаждения в течение 6 нед.

В результате очаговой деградации цитоплазмы и органелл возрастало число миелиноподобных структур, наблюдались секвестрация и лизис гликогена. Для 16 сут чрезмерного охлаждения характерной особенностью внутриклеточной реорганизации было появление кольцеобразных митохондрий, плотно окружающих розетки гликогена, а также обилие в пространстве Диссе мощных пучков коллагеновых волокон, что коррелировало с увеличением объемной плотности волокон и основного вещества соединительной ткани при тканевом исследовании микрорайона печени.

Внутриклеточная реорганизация гепатоцитов после однократного общего перегревания у животных обоих видов характеризовалась нарастающими нарушениями энергетического и пластического обменов. Ультраструктурные изменения гепатоцитов при этом заключались в реорганизации ядерного аппарата (выраженных инвагинациях нуклеолеммы, значительной маргинации хроматина), редукции, вакуолизации и дегрануляции гранулярной ЭС, вакуолизации агранулярной ЭС и аппарата Гольджи, деградации митохондрий с образованием миелиноподобных структур, а также лизисе и секвестрации гликогена.

Усиление литических процессов приводило к накоплению значительного количества аутофагосом на синусоидальном полюсе и в перинуклеарном пространстве, скоплению вторичных лизосом с гранулами липофусцина на билиарных полюсах. Однако в гепатоцитах уже к 7-м суткам после перегревания начинали проявляться признаки возобновления внутриклеточной регенерации в виде очаговой гиперплазии гранулярной ЭС и митохондрий. К 14-м суткам процессы внутриклеточной регенерации начинали преобладать над процессами деструкции, но сохранялось обилие аутофагосом на синусоидальных полюсах гепатоцитов и оставалось увеличенным количество миелиноподобных структур как в цитоплазме гепатоцитов, так и в желчных капиллярах и просветах синусоидов.

Ультраструктурный стереологический анализ гепатоцитов при воздействии на крыс низких температур выявил ряд стереотипных изменений. При обоих режимах охлаждения отмечено достоверное увеличение объемной плотности агранулярной ЭС (на 55 и 19% через 6 и 8 нед умеренного охлаждения и на 91% через 16 сут чрезмерного охлаждения). Объемная плотность гранулярной ЭС, наоборот, достоверно снижалась - на 33% через 8 нед умеренного охлаждения и на 45% через 8 сут чрезмерного охлаждения; к 16-м суткам чрезмерного охлаждения происходило увеличение объемной плотности гранулярной ЭС (на 19%, $p < 0.05$).

Во все сроки чрезмерного и умеренного охлаждения отмечено достоверное снижение объемного отношения гранулярной ЭС к агранулярной ЭС (рис. 4), что свидетельствовало об усилении процессов детоксикации, а также небелкового синтеза над белоксинтетическими процессами.

При общем умеренном охлаждении организма происходило достоверное увеличение объемной и поверхностной плотности митохондрий (соответственно на 27 и 21% через 8 нед эксперимента). При чрезмерном охлаждении объемная плотность митохондрий существенно не изменялась на протяжении всего опыта.

Насыщенность единицы объема гранулярной ЭС мито-хондриями (объемное отношение структур) достоверно снижалась на 8-е сутки чрезмерного охлаждения и 8-й неде-ле умеренного охлаждения (соответственно на 46 и 52%, $p < 0,05$), что обуславливалось значительным снижением объемной плотности гранулярной ЭС (рис. 5).

При анализе вторичных стереологических параметров следует отметить также достоверное снижение поверхностно-но-объемного отношения агранулярной ЭС - на 67 и 23% через 6 и 8 нед умеренного охлаждения и на 44% на 16-е сутки чрезмерного охлаждения. Такие изменения были обусловлены достоверным увеличением объемной плотности и достоверным снижением поверхностной плотности агранулярной ЭС и свидетельствовали о ее значительной вакуолизации.

Количественный анализ внутриклеточной реорганизации гепатоцитов после общего однократного перегревания показал, что изменения возникали уже через 30 мин после окончания воздействия высокой температуры. Так, у мышей линии СВА зарегистрировано достоверное увеличение объемной плотности гранулярной ЭС (на 28%, $p < 0.05$) и достоверное снижение объемной плотности агранулярной ЭС (на 45%, $p < 0.05$). Эти изменения обусловили достоверное увеличение объемного отношения гранулярной ЭС к агранулярной ЭС (на 144%, $p < 0.05$) (см. рис. 4).

На 3-и сутки посттепловой реституции направленность внутриклеточных перестроек гепатоцитов у мышей сохранялась и коррелировала с таковой у крыс Вистар. У животных обоих видов выявлено достоверное снижение объемной плотности митохондрий (соответственно на 7 и 13%, $p < 0.05$), агранулярной ЭС (на 63 и 34%, $p < 0.05$) и поверхностной плотности агранулярной и гранулярной ЭС.

На 7-е сутки у мышей линии СВА основные стереологические параметры находились уже на уровне контрольных значений. Исключение составляло поверхностно-объемное отношение агранулярной ЭС - этот показатель оставался достоверно сниженным (на 18%, $p < 0.05$). У крыс линии Вистар аналогичного восстановления не происходило - сохранялось достоверное снижение поверхностной плотности агранулярной и гранулярной ЭС, поверхностно-объемного отношения агранулярной и гранулярной ЭС. У крыс Вистар также следует отметить увеличение объемного отношения гранулярной ЭС к митохондриям (на 33%) (см. рис. 5). Важно отметить, что у животных обоих видов объемное отношение гранулярной ЭС к агранулярной ЭС было увеличено, в большей степени - у мышей СВА (см. рис. 4).

На 14-е сутки после перегревания у мышей линии СВА некоторые показатели достоверно изменялись как по сравнению с контролем, так и с 7-ми сутками эксперимента. Достоверно увеличивались объемная плотность митохондрий (на 28%, $p < 0.05$) и поверхностно-объемное отношение гранулярной ЭС, снижалось объемное отношение гранулярной ЭС к митохондриям (на 36%, $p < 0.01$).

Таким образом, при воздействии экстремальных температурных факторов общей закономерностью пространственной внутриклеточной реорганизации гепатоцитов является диспропорциональный характер изменений объемных и поверхностных плотностей основных цитоплазматических структур. Тем не менее, при охлаждении и перегревании выявлена различная направленность в изменениях внутриклеточной композиции гепатоцитов. Диспропорциональные изменения количественных показателей гранулярной и агранулярной ЭС во все сроки охлаждения обусловили стойкое снижение их объемного отношения, преимущественно за счет гипертрофии и гиперплазии агранулярной ЭС. Такой сдвиг, вероятно, обусловлен, с одной стороны, усилением функциональной активности агранулярной ЭС, вызванной интенсификацией процессов детоксикации и повышенной утилизацией гликогена в связи с необходимостью поддержания теплового баланса в организме, а с другой стороны - относительным снижением уровня белкового синтеза.

При перегревании у животных обоих видов, наоборот, происходило значительное увеличение объемного отношения гранулярной ЭС к агранулярной ЭС (на 3-и и 7-е сутки после воздействия), вызванное снижением объемной плотности агранулярной ЭС.

Информационный анализ гепатоцитов крыс при экстремальных температурных воздействиях выявил разнонаправленный характер изменений при умеренном и чрезмерном охлаждении. При умеренном охлаждении обнаружена тенденция к увеличению энтропии и относительной энтропии и уменьшению коэффициента избыточности через 6 нед воздействия. В дальнейшем (через 8 нед) происходило возвращение информационных показателей к исходному уровню. При чрезмерном охлаждении отмечено снижение энтропии и относительной энтропии гепатоцитов и увеличение коэффициента избыточности на 8-е сутки эксперимента. К 16-м суткам зарегистрировано возвращение системы в исходное состояние.

Поскольку энтропия является мерой структурной неупорядоченности системы (Леонтьук А.С. и др., 1981; Автандилов Г.Г., 1990), то ее увеличение при умеренном охлаждении свидетельствовало о

нарастании неупорядоченности структурной организации гепатоцитов или увеличении их структурного разнообразия. При чрезмерном охлаждении развивались обратные процессы.

При общем перегревании организма информационные показатели гепатоцитов изменялись волнообразно. У крыс и мышей через 3 сут после перегревания происходило снижение энтропии гепатоцитов и увеличение коэффициента избыточности. В дальнейшем (у крыс к 7-м суткам, а мышей к 14-м суткам) энтропия нарастала, коэффициент избыточности снижался.

Гипогеомагнитные воздействия. По данным электронно-микроскопического исследования наиболее существенные изменения ультраструктуры гепатоцитов начинали проявляться через 6 ч пребывания в гипогеомагнитной камере и нарастали к 24 ч эксперимента. Отмечалась умеренная гипертрофия и гиперплазия агранулярной ЭС, вакуолизация аппарата Гольджи, особенно на терминальных участках. Значительные изменения отмечались в пространственной организации гликогена - происходило формирование обширных «полей», а также лизис и выраженная миелопоподобная трансформация гликогена. Вокруг гликогеновых «полей» в изобилии наблюдались везикулы агранулярной ЭС. Изменялась структура митохондрий - матрикс был умеренно просветлен и разрыхлен, несколько увеличивались размеры органелл. Отмеченные изменения свидетельствовали о происходящей структурной реорганизации и изменении уровня белкового и углеводного синтезов.

Ультраструктурный стереологический анализ выявил уменьшение объемной (на 17%, $p < 0.05$) и поверхностной (на 23%) плотностей митохондрий через 24 ч нахождения в гипогеомагнитной камере.

Пребывание мышей в гипогеомагнитных условиях вызвало увеличение объемной плотности гранулярной ЭС, особенно заметное через 3 ч эксперимента (на 45%). Объемная и поверхностная плотности агранулярной ЭС наиболее заметно изменялись через 6 ч эксперимента - происходило их увеличение (соответственно на 67 и 44%).

Изменения объемного отношения гранулярной ЭС к митохондриям и гранулярной ЭС к агранулярной ЭС при данном воздействии носили волнообразный характер (см. рис. 4, 5). Через 3 и 24 ч пребывания в гипогеомагнитной камере эти отношения были увеличены, а 6-часовая геомагнитная депривация приводила к снижению данных отношений. Подобные изменения отражали усиление биосинтетических процессов в течение первых 3-х ч пребывания в гипогеомагнитной камере, затем (через 6 ч) их снижение и преобладание процессов деструкции. Через 24 ч возобновлялись процессы внутриклеточной регенерации.

Анализ информационных показателей гепатоцитов при гипогеомагнитных воздействиях выявил достоверное увеличение энтропии и относительной энтропии через 30 мин и 6 ч эксперимента. В эти же сроки происходило достоверное уменьшение коэффициента избыточности, что свидетельствовало о снижении интенсивности морфогенетических процессов.

Наблюдаемые в гепатоцитах ультраструктурные изменения при нахождении в гипогеомагнитной среде - деструктивные изменения митохондрий, очаговая деградация саркоплазмы, усиление аутофагоцитоза, заметное уменьшение гранул гликогена - также отражают развитие регенераторно-пластической недостаточности гепатоцитов.

Стереотипный характер ультраструктурных изменений гепатоцитов при экстремальных экологических воздействиях свидетельствует об общности молекулярно-клеточных механизмов развития их регенераторно-пластической недостаточности. С этих позиций описанный нами комплекс основных ультраструктурных изменений гепатоцитов можно рассматривать как их неспецифическую реорганизацию в условиях нарушения пластического и энергетического обмена различного генеза. Исходом подобных состояний гепатоцитов при достаточно продолжительном времени воздействия является атрофия отдельных клеток и их резорбция макрофагами.

Повреждения гепатоцитов при действии на организм неадекватных экологических факторов всегда носят мозаичный характер, что обусловлено структурно-функциональной гетерогенностью печеночных клеток, особенностями кровоснабжения различных зон печени. Поэтому в популяции гепатоцитов присутствуют клетки с различным характером и выраженностью морфофункциональных повреждений, а также клетки с нормальной ультраструктурой, которые в основном определяют функциональное состояние печени и служат основным резервом для развивающихся адаптивно-компенсаторных процессов. Однако по мере увеличения продолжительности воздействия число таких клеток существенно уменьшается. В популяции гепатоцитов начинают преобладать клетки с одним «фенотипом», т.е. практически исчезает их структурно-функциональная гетерогенность. Особенно

быстро «клеточный фенотип» изменяется под действием факторов физической природы, в частности, при различных электромагнитных излучениях.

Таким образом, наблюдаемая при экстремальных экологических воздействиях структурная реорганизация печени является результатом сложной цепи событий, пусковым механизмом которых являются взаимодействия факторов внешней среды, в частности, электромагнитных излучений с различными морфофункциональными системами организма и различными компонентами клетки (хроматином, клеточной и внутриклеточной мембранами, макромолекулами, ионами металлов и т.п.).

В результате этих взаимодействий происходит перестройка функционирования клеток, формируется их новый фенотип, т.е. осуществляется реализация некоторой генетической программы, выбор которой определяется характером и интенсивностью воздействия. Следует подчеркнуть, что реализация новой генетической программы в клеточных популяциях у млекопитающих в результате внешних воздействий происходит, как правило, на фоне развивающегося общего адаптационного синдрома, что находит свое отражение в структурно-функциональных перестройках, особенно на тканевом уровне организации.

ВЫВОДЫ

1. В печени животных под действием экстремальных экологических факторов (контрастных температурных воздействий, гипогеомагнитной среды) развиваются стереотипные морфофункциональные изменения: выраженные нарушения крово- и лимфообращения (венозное и синусоидное полнокровие, лимфостаз, сладж эритроцитов), дистрофия и некробиоз гепатоцитов с резорбцией их мононуклеарными клетками.

2. Закономерностью пространственной реорганизации тканевого микрорайона печени при экстремальных экологических воздействиях, отражающей адаптивно-компенсаторные тканевые стратегии, является диспропорциональный характер изменений объемных плотностей синусоидов и гепатоцитов. При этом в условиях умеренного общего охлаждения и в начальный период посттепловой реституции и у крыс, и у мышей происходит уменьшение объемного отношения синусоидов к гепатоцитам, а при чрезмерном общем охлаждении и действии гипогеомагнитной среды отмечается увеличение этого параметра.

3. Клеточные адаптивно-компенсаторные стратегии при действии экстремальных экологических факторов проявляются в изменениях ядерно-цитоплазматических отношений, поверхностно-объемных отношений гепатоцитов и их ядер. Поверхностно-объемные отношения гепатоцитов у крыс и мышей при действии экстремальных температур не изменяются или уменьшаются, что свидетельствует о гипертрофии клеток паренхимы. При действии гипогеомагнитной среды поверхностно-объемные отношения гепатоцитов возрастают, что отражает процесс их атрофии.

4. Стереотипной реакцией гепатоцитов в печени крыс на экстремальные температурные воздействия (охлаждение и перегревание) является увеличение ядерно-цитоплазматических отношений при одновременном снижении поверхностно-объемных отношений ядер гепатоцитов, что свидетельствует о гипертрофии ядер и усилении их функциональной активности. У мышей в условиях общего перегревания и действия гипогеомагнитной среды отмечается противоположный характер изменений - ядерно-цитоплазматические отношения уменьшаются, а поверхностно-объемные отношения ядер гепатоцитов возрастают или не изменяются.

5. Однократное общее перегревание мышей вызывает снижение (на 13%) общей численности гепатоцитов в печени в течение первых суток, которое обусловлено преимущественно уменьшением концентрации гепатоцитов. В последующие сроки сначала происходит восстановление общей численности паренхиматозных клеток, а затем стойкое снижение. Репаративная регенерация печени на клеточном уровне в данных условиях осуществляется в основном путем деления пула двуядерных клеток, который постепенно истощается, что приводит к растормаживанию стволового резерва с овально-клеточной пролиферацией и последующей дифференцировкой в гепатоциты. Основной регенераторной стратегией печени на клеточном уровне при экстремальных воздействиях является поддержание общей численности клеток паренхимы.

6. При действии экстремальных экологических факторов (контрастных температур и гипогеомагнитной среды) в отдельных гепатоцитах регистрируются ультраструктурные признаки нарушения процессов внутриклеточной регенерации: фрагментация и редукция гранулярной ЭС, очаговая деструкция органелл и лизис цитоплазмы (парциальный некроз), усиление аутофагических процессов, секвестрация гликогена и митохондрий с образованием миелоноподобных структур. Существенно изменяется ядерный аппарат: усиливается полиморфизм ядер, происходит дислокация ядер к плазматической мембране, отмечается сегрегация фибриллярного и гранулярного компонентов ядрышек, формируются выраженные инвагинации ядерной мембраны.

7. Адаптивно-компенсаторные стратегии гепатоцитов на внутриклеточном уровне проявляются в диспропорциональных изменениях структурных плотностей основных цитоплазматических органелл, участвующих в процессах био-синтеза и образования энергии. При охлаждении организма в гепатоцитах снижается объемное отношение гранулярной ЭС к митохондриям, что связано с усилением энергетического обмена и отражает участие печени в несократительном термогенезе. В процессе посттепловой реституции у крыс это отношение возрастает, а у мышей снижается, что отражает видовую специфику адаптивной реорганизации гепатоцитов.

8. Воздействие низких температур на организм животных вызывает снижение объемного отношения гранулярной ЭС к агранулярной ЭС в основном за счет значительной редукции и фрагментации мембран гранулярной ЭС, что свидетельствует об угнетении белкового синтеза и превалировании процессов детоксикации.

9. Изменения внутриклеточной архитектоники гепатоцитов в начальный период посттепловой реституции (до 3 сут) характеризуются увеличением объемного отношения гранулярной ЭС к агранулярной ЭС. В последующие сроки происходит уменьшение этого отношения, что отражает снижение процессов белкового синтеза. Пребывание в гипогеомагнитной среде не вызывает существенного изменения этого отношения.

10. Общей закономерностью пространственной реорганизации печени на тканевом и внутриклеточном уровнях при действии экстремальных экологических факторов является диспропорциональный характер изменений объемных и поверхностных плотностей основных тканевых и цитоплазматических компартментов, что приводит к "атипичной" регенерации, которая характеризуется нарушением тканевой и внутриклеточной архитектоники.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Количественный тканевый анализ миокарда крыс при общем перегревании организма // Бюл. экспер. биол. - 1993. - Т. 116 - № 7. - С. 81 - 85 (соавт. Лушникова Е.Л. и др.).
2. Quantitative analysis of rat myocardial tissue for general overheating of the organism // Bull. Exper. Biol. Med. N.Y. - 1993. - Vol. 116. - P. 866 - 871 (соавт. Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М., Клиникова М.Г.).
3. Ультраструктурный стереологический анализ кардиомиоцитов крыс при общем перегревании // Бюл. экспер. биол. - 1994. - Т. 117. - № 1. - С. 96 - 100 (соавт. Луш-никова Е.Л., Непомнящих Л.М., Клиникова М.Г.).
4. Сравнительный анализ популяции гепатоцитов у мышевидных грызунов из районов с разными экологическими условиями // 2-й Съезд физиологов Сибири и Дальнего Востока. - Новосибирск, 1995. - Ч. 2. - С. 300 - 301 (соавт. Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М.).
5. Гистостереологический анализ печени лесных мышей из районов с различными экологическими условиями // Проблемы саногенного и патогенного эффектов экологических воздействий на внутреннюю среду организма. - Бишкек, 1995. Ч. 1. - С. 116 - 117 (соавт. Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М.).
6. Morphofunctional status of hepatocytes of wild rodents from the regions with different levels of anthropogenic pollution // ICEP 95 and ICONE 95. - St. Petersburg, 1995. - P. 149 (соавт. Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М.).

7. Ультраструктурная реорганизация миокарда в условиях гипогеомагнитного поля. - Препринт. - Новосибирск, 1995. - 43 с. (соавт. Непомнящих Л.М. и др.).
8. Кариометрический анализ популяции гепатоцитов лесных мышей из районов с разным уровнем техногенного загрязнения // Бюл. exper. биол. - 1996. - Т. 121. - № 2. - С. 223 - 227 (соавт. Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М.).
9. Ультраструктурный стереологический анализ печени мышевидных грызунов из районов с разным уровнем антропогенных загрязнений // Бюл. exper. биол. - 1996. - Т. 121. - № 4. - С. 470 - 476 (соавт. Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М.).
10. Паренхиматозно-стромальные взаимодействия в печени мышевидных грызунов из районов с разными экологическими условиями // Бюл. exper. биол. - 1996. - Т. 122. - № 7. - С. 90 - 96 (соавт. Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М.).
11. Karyometric analysis of hepatocytes of common field mice from regions with different levels of technogenic contamination // Bull. Exper. Biol. Med. N.Y. - 1996. - Vol. 121. - P. 206 - 210 (соавт. Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М.).
12. Ultrastructural stereologic analysis of liver of common field mice from regions with different levels of anthropogenic pollution // Bull. Exper. Biol. Med. N.Y. - 1996. - Vol. 121 - P. 453 - 459 (соавт. Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М.).
13. Ультраструктурная реорганизация гепатоцитов мышевидных грызунов из экосистем с различной антропогенной модификацией // Клини. и эксперим. исследования молодых ученых СО РАМН. - Новосибирск, 1996. - С. 83.
14. Гистостереологический анализ печени мышевидных грызунов из районов с неблагоприятными экологическими условиями // Клини. и эксперим. исследования молодых ученых СО РАМН. - Новосибирск, 1996. - С. 84.
15. Структурно-функциональная реорганизация печени в условиях хронического воздействия техногенных факторов // Актуальные вопросы современной медицины: Тезисы докл. 7-й научно-практ. конф. врачей - Новосибирск, 1997. - Т. 2. - С. 163 - 164 (соавт. Лушникова Е.Л., Ащеулова Н.В.).
16. Структурная реорганизация миокарда мышей при воздействии гипогеомагнитного поля // 3-й Съезд физиологов Сибири и Дальнего Востока. - Новосибирск, 1997. - С. 132 (соавт. Лушникова Е.Л., Клиникова М.Г.).
17. Структурно-функциональные изменения печени грызунов в условиях хронического действия техногенных факторов // 3-й Съезд физиологов Сибири и Дальнего Востока. - Новосибирск, 1997. - С. 150 (соавт. Лушникова Е.Л., Ащеулова Н.В.).
18. Морфологическое исследование печени мышевидных грызунов из районов Алтайского края, подвергнутых радиационному воздействию // Радиационная биология. - 1997. - Т. 37. - Вып. 6. - С. 860 - 869 (соавт. Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М.).
19. Тканевая и внутриклеточная реорганизация миокарда мышей при воздействии гипогеомагнитного поля // Бюл. exper. биол. - 1997. - Т. 124. - № 10. - С. 455 - 459 (соавт. Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М.).
20. Ультраструктурная реорганизация миокарда мышей при воздействии гипогеомагнитного поля // Сиб. науч. вестн. - 1997. - Вып. 1. - С. 20 - 26 (соавт. Лушникова Е.Л. и др.).
21. Последствия воздействия ионизирующих излучений при ядерных испытаниях. Морфологическое исследование печени мышевидных грызунов из модельных районов Алтайского края // Сиб. науч. вестн. - 1998. - Вып. 2. - С. 31 - 40 (соавт. Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М.).
22. Ультраструктура кардиомиоцитов мышей при воздействии гипогеомагнитного поля // Актуальные вопросы современной медицины: Тезисы докл. 8-й науч.-практ. конф. врачей. - Новосибирск, 1998. - С. 394 - 395.
23. Структурно-функциональная реорганизация миокарда и печени мышевидных грызунов в условиях хронического действия антропогенных факторов // Основные направления формирования здоровья человека на Севере: Материалы науч. конф. - Красноярск, 1999. - С. 170 - 172 (соавт. Лушникова Е.Л.).
24. Закономерности ультраструктурной реорганизации кардиомиоцитов и гепатоцитов мышевидных грызунов, обитающих на загрязненных территориях // Основные направления

формирования здоровья человека на Севере: Материалы науч. конф. - Красноярск, 1999. - С. 186 - 189 (соавт. Лушникова Е.Л.).

25. Гибель, элиминация и регенерация кардиомиоцитов мышечной ткани после гипертермии // Бюл. экспер. биол. - 2000. - Т. 130. - № 8. - С. 228 - 231 (соавт. Лушникова Е.Л., Непомнящих Л.М., Клиникова М.Г.).

26. Апоптоз, снижение общей численности популяции гепатоцитов мышечной ткани после гипертермии // Бюл. экспер. биол. - 2000. - Т. 130. - № 9. - С. 346 - 350 (соавт. Непомнящих Л.М., Лушникова Е.Л., Клиникова М.Г.).

27. Ультраструктурная реорганизация гепатоцитов крыс после общего охлаждения // Материалы VI Всероссийской конференции по патологии клетки. - М., 2000. - С. 26 -27.

28. Общее перегревание организма: Абсолютная численность популяции мышечных клеток сердца и печени // Сиб. науч. вестн. - 2000. - Вып. 4. - С. 8 - 11 (соавт. Клиникова М.Г. и др.).

29. Apoptosis: Decrease of hepatocyte population in mice after hyperthermia // Bull. Exper. Biol. Med. - N.Y., February, 2001. - Vol. 130. - P. 912 - 916 (соавт. Непомнящих Л.М. и др.).

Соискатель

О.П.Молодых