

УДК 591:169:616-003

А.Ф. КАРАПЕТЯН

## О КЛЕТОЧНЫХ МЕХАНИЗМАХ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ *RANA RIDIBUNDA*

Приводятся результаты морфометрического изучения печени *Rana ridibunda*, проведенного в разные сроки после частичной гепатэктомии. Показано, что восстановительная реакция печени лягушек после частичной гепатэктомии так же, как у млекопитающих и птиц, характеризуется гипертрофией ядер и цитоплазмы гепатоцитов. В динамике изменений количества двуядерных гепатоцитов выявлена общая с регенерирующей печенью птиц особенность печени лягушек, выражающаяся в увеличении плоидности ее клеток (количество двуядерных) при посттравматической регенерации.

Регенерация – это восстановление утраченной или поврежденной дифференцированной структуры [1].

К числу наиболее актуальных вопросов в проблеме регенерации относится сравнительное изучение репаративных процессов в филогенетическом ряду животных, а также выяснение источников и механизмов восстановительного роста. Излюбленной моделью для исследователей при изучении закономерностей регенерации внутренних органов является печень млекопитающих. Многочисленными исследованиями выявлена роль различных клеточных механизмов при регенерации этого органа. Одним из них – является резкое повышение пролиферативной активности клеток, которая проявляется в первую очередь в значительном увеличении их митотической активности [2–4].

В литературе [5–6] утвердилось мнение о том, что регенерация печени млекопитающих осуществляется главным образом благодаря делению дифференцированных гепатоцитов, но в активный процесс размножения вступают также элементы стромы и синусоидальные клетки. Однако высказываются и предположения о наличии в печени камбиальных клеток, участвующих в восстановительных процессах [5–8].

Важную роль в процессе постнатального роста, а также при физиологической и репаративной регенерации печени млекопитающих играет и полиплоидизация клеток [9], при этом определенная часть восстановленной массы печени млекопитающих приходится на долю гипертрофии клеток [10]. Гипертрофия клеток является выражением внутриклеточного регенераторного процесса и одним из эффективных способов поддержания гомеостаза органа [11].

Амфибии, представляющие весьма важную ступень в эволюции позвоночных, недостаточно изучены с точки зрения особенностей восстановительных процессов внутренних органов. В доступной нам литературе мы встретили лишь единичные работы, посвященные этому вопросу [12, 13].

В данной статье приводятся некоторые результаты морфометрического изучения регенерирующей печени озерной лягушки (*Rana ridibunda*) после ее резекции.

**Материал и методы исследования.** В работе было использовано 70 особей вида *Rana ridibunda* (озерная лягушка), каждая весом 20–35 г. Опыты ставились в период с октября по декабрь по разработанному нами методу. Лягушек при этом не кормили. Животных за 10–20 минут до операции охлаждали в холодильнике при температуре +4°C. Операция печени у лягушек производилась на заранее приготовленном льду. Через разрез по левому краю грудины извлекали часть левой доли печени. После наложения лигатуры резецировали дистальную ее часть, которая составляла 1/6–1/5 массы органа. Через 1, 3, 5, 10, 20, 45 дней животных забивали, и после взвешивания печени брали для гистологической и гистохимической обработки ее кусочки с зоны резекции и с правой, интактной доли, и фиксировали в жидкостях Буэна и Телесницкого.

На серийных парафиновых срезах толщиной 4–6 мкм, окрашенных гематоксилин-эозином, определяли количество двуядерных гепатоцитов и количество гепатоцитов, приходящихся на 100 полей зрения, при помощи винтового окуляр-микрометра измеряли диаметр ядер гепатоцитов. Полученные цифровые данные обрабатывались методом вариационной статистики с определением средних величин ( $M$ ) и средних ошибок ( $\pm m$ ), достоверность различия между нормой и реакцией на воздействие определяли при помощи критерия Стьюдента ( $t$ ).

**Результаты и обсуждение.** Печень подопытных лягушек при внешнем осмотре в течение 45 суток после резекции не проявляла признаков восстановления исходной формы, однако масса органа восстанавливалась и уже через 20 дней превышала норму (табл. 1).

Для выяснения роли разных клеточных механизмов адаптивного роста в регенерации печени у амфибий мы изучали изменения количества двуядерных клеток и размеров цитоплазмы и ядер в резецированной и интактной долях регенерирующей печени в динамике восстановительного роста.

В интактной печени половозрелых лягушек довольно часто встречаются двуядерные гепатоциты (в среднем – 16,6%). Резекция печени вызывает увеличение количества этих клеток (табл. 2). Уже через сутки после операции количество двуядерных гепатоцитов превышает норму как в резецированной доле, так и в интактной. Разница с нормой в обеих долях достигает статистически достоверной степени через 10 суток после операции. Через 20 суток после частичной гепатэктомии количество двуядерных гепатоцитов в регенерирующей печени лягушек еще более увеличивается.

Результаты проведенного нами карнометрического исследования показали, что при посттравматической регенерации печени лягушки имеет место гипертрофия ядер гепатоцитов. Увеличение площади сечения ядер гепатоцитов мы наблюдали уже через сутки после частичной гепатэк-

томии ( $0,05 > p > 0,02$ ), а в последующие сроки восстановительного роста в печени – дальнейшее увеличение размеров ядер гепатоцитов (табл. 3). Через

Таблица 1

Изменения массы печени *Rana ridibunda* в разные сроки после частичной гепатэктомии

Группа животных	Масса органа	Сроки после операции, дни				
		1	3	5	10	20
опыт	абсолют., г (M±m)	600±78,24	672,5±67,77	601±64,8	580±74,5	488,3±60,8
	относит., %	2,04±0,227	2,534±0,24	2,4±0,285	2,335±0,3	1,93±0,193
контроль	абсолют., г (M±m)	830,83±215,46	686,66±2062	660,83±135,46	657,5±152,3	392,5±45,7
	относит., %	2,766±0,626	2,47±0,567	2,6±0,36	2,54±0,335	1,53±0,155
% от контроля	по абсолют. массе	72	98	91	88,2	124,5
	по относит. массе	73,7	101,6	93,1	92	126,1
p	по абсолют. массе	0,5>p>0,2	p>0,5	p>0,5	p>0,5	0,5>p>0,2
	по относит. массе	0,5>p>0,2	p>0,5	p>0,5	p>0,5	0,2>p>0,1

Таблица 2

Изменения числа двуядерных гепатоцитов в зоне резекции и правой интактной доле регенерирующей печени *Rana ridibunda*

Сроки опыта	Количество животных	Зона резекции		p	Правая интактная доля		p
		двуядерные клетки, % (M±m)	% от контроля		двуядерные клетки, % (M±m)	% от контроля	
контроль	25	16,6±0,96	-	-	16,6±0,96	-	-
1	5	18,4±3,56	110,9	p>0,5	17,05±2,64	102,71	p>0,5
3	6	18,35±1,02	110,54	0,5>p>0,2	18,25±3,23	109,93	p>0,5
5	5	22,96±3,43	138,46	0,2>p>0,1	14,87±1,56	89,58	0,5>p>0,2
10	4	22,96±2,5	138,46	0,05>p>0,02	29,46±2,46	177,59	0,02>p>0,01
20	5	26,96±2,55	162,59	p>0,001	29,04±4,1	174,93	0,07>p>0,001

5–10 дней после частичной гепатэктомии гипертрофия ядер достигает максимальной степени. Через 20 суток размеры ядер гепатоцитов уменьшаются ( $30,47 \pm 1,16$ ), но все еще превышают норму. В последний срок опыта

наблюдений – через 45 суток – площадь сечения ядер гепатоцитов от нормы не отличается.

Для создания представления об изменениях объема цитоплазмы гепатоцитов мы подсчитали количество клеток на стандартной площади среза.

Таблица 3

Изменения размеров ядер гепатоцитов в резецированной доле регенерирующей печени *Rana ridibunda*

Сроки опыта, дни	Кол-во животных	Ср. площадь ядра, относительные единицы ( $M \pm m$ )	p
контроль	12	27,04±0,372	–
1	5	30,71±1,44	0,05>p>0,02
3	6	30,39±0,95	0,001>p>0,001
5	5	32,69±1,9	0,001>p>0,001
10	4	32,59±0,94	p<0,001
20	5	30,47±1,16	0,02>p>0,01
45	5	27,04±0,75	–

Через сутки после частичной гепатэктомии размеры гепатоцитов по сравнению с нормой резко увеличиваются, о чем свидетельствует статистически достоверное уменьшение их количества на стандартной площади среза (табл. 4). Через 3–5 суток гепатоциты, по-видимому, несколько уменьшаются в размерах. В последующие сроки опыта – через 10–20 суток – после частичной гепатэктомии мы наблюдали уменьшение количества клеток на стандартной площади среза.

Таблица 4

Изменения количества гепатоцитов в резецированной доле регенерирующей печени *Rana ridibunda*

Сроки опыта, дни	Количество животных	Ср. кол-во клеток на 100 полей зрения ( $M \pm m$ )	p	% от контроля
контроль	28	2480±91,5	–	–
1	5	1935±92,6	0,01>p>0,001	78,02
3	6	2360±176,8	0,5>p>0,2	95,16
5	5	2186±170	0,2>p>0,1	88,15
10	4	2192±45,75	0,01>p>0,001	88,38
20	5	2401±131,5	0,01>p>0,001	96,8

Таким образом, клеточная реакция печени лягушек после частичной гепатэктомии так же, как у млекопитающих и птиц [14], характеризуется гипертрофией ядер и цитоплазмы гепатоцитов. Восстановительная реакция печени *Rana ridibunda* сопряжена с увеличением количества двуядерных гепатоцитов, достигающим статистически достоверной степени через 10–20

дней после частичной гепатэктомии. Рост популяции двуядерных клеток в течение первого месяца регенерации печени наблюдался также у домашних кур [15]. В динамике изменений количества двуядерных гепатоцитов проявляется отличие регенерации печени кур и лягушек от регенерации печени млекопитающих, в ходе которой, согласно литературным данным, имеет место уменьшение числа этих клеток [16]. Оценивая увеличение плоидности (числа двуядерных) гепатоцитов как компенсаторную реакцию органа после частичной гепатэктомии, мы считаем, что у птиц и амфибий оно обусловлено невысоким уровнем митотической активности гепатоцитов.

Кафедра зоологии

Поступила 04.07.2001

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Улумбеков Э.Г., Челышев Ю.А. Гистология. М.: Изд-во ГЭОТАР-Мед, 2001, 672 с.
2. Сидорова В.Ф., Рябинина З.А., Лейкина Е.М. Регенерация печени у млекопитающих. Л.: Медицина, 1966, 203 с.
3. Бениш В.А. – Цитология, 1970, т. 12, № 12, с. 1497–1505.
4. Кавтнашвили К.Г., Мачавариани Т.Г., Хундадзе Т.О. Общие закономерности морфогенеза и регенерации. Тбилиси, 1988, с. 151–154.
5. Бекетова Г.П., Лапш К.А., Королев В.В., Ковач Л.В. – Бюлл. exper. биологии и медицины, 1980, т. 90, № 8, с. 238–242.
6. Баранов В.Н., Энгельгардт Н.В., Лазарева М.Н., Гусев А.И., Язова А.К., Шахламов В.А., Абелев В.И. – Бюлл. exper. биологии и медицины, 1982, т. 94, № 7, с. 82–84.
7. Kountouras J., Vouga P., Lygidakis N. – J. Hepatogastroenterology, 2001, v. 48(38), p. 556–562.
8. Vessey C.J, de la Hall P.M. – Pathology, 2001, v. 33(2), p. 130–141.
9. Бродский В.Я., Урываева И.В. Клеточная полиплоидия, пролиферация и дифференцировка. М.: Наука, 1981, 259с.
10. Рябинина З.А., Бениш В.А. Полиплоидия и гипертрофия клеток в процессах роста и восстановления. М.: Медицина, 1973, 207с.
11. Саркисов Д.С. Очерки по структурным основам гомеостаза. М.: Медицина, 1977, 351 с.
12. Лиознер Л.Д. – Бюлл. exper. биологии и медицины, 1961, т. 52, № 8, с. 98–101.
13. Григорьев Н.И. Строение и регенерация печени после ее местного повреждения. Л.: Медицина, 1975, 190 с.
14. Дживания К.А. О взаимообусловленности посттравматической регенерации печени и поджелудочной железы у кур: Автореф. дис. на соиск. уч. ст. докт. биол. наук. М.: УДН, 1990, 32 с.
15. Дживания К.А., Тер-Оганян К.С. – Бюлл. exper. биологии и медицины, 1979, т. 95, №1, с. 68–72.
16. Иалева Т.С. Некоторые вопросы пролиферации нормальных и малигнизированных гепатоцитов: Автореф. на соиск. уч. ст. канд. мед. наук. М.: ИМФ, 1980, 21с.

Ա.Ֆ. ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ

### ՐԱՆԱ ՐԻԴԻԲՈՒՆԴԱ-Ի ԼՅԱՐԴԻ ՀԵՏՎՆԱՍՎԱԾՔԱՅԻՆ ՌԵԳԵՆԵՐԱՑԻԱՅԻ ԲԶՋԱՅԻՆ ՄԵԽԱՆԻԶՄՆԵՐԻ ՄԱՍԻՆ

Ա մ փ ո փ ո մ

Գորտի լյարդի ռեգեներացիայի գործընթացում ադապտիվ աճի բջջային տարրեր մեխանիզմների դերը պարզելու նպատակով կատարվել է ձևաչափական հետազոտություն: Եզրակացություն է արվում այն մասին, որ ինչպես կաթնասունների և թռչունների լյարդի, այնպես էլ երկկենցաղների լյարդի

հետվնասվածքային ռեգեներացիան ուղեկցվում է հեպատոցիտների կորիզների և ցիտոպլազմայի գերաճով: Բացահայտվել է գորտի և թռչունների վերականգնվող լյարդի մեկ ընդհանուր առանձնահատկությունը, որը երկկորիզ բջիջների քանակության ավելացումն է մասնակի հեպատեկտոմիայից հետո:

A.F. KARAPETIAN

CELLULAR MECHANISMS OF POSTTRAUMATIC REGENERATION  
OF THE LIVER OF *RANA RIDIBUNDA*

Summary

There are results of morphological examination of the liver of *Rana ridibunda* that was done in different periodes of time after partial hepatectomy. It is shown that the restorative reaction of the frogs liver after partial hepatectomy, as well as the reaction of the liver of mammals and birds , is characterized by hepatocytes nuclei and cytoplasm hypertrophy. In the dynamics of quantity changes of double-nuclei hepatocytes there was determined a common peculiarity between the liver of birds and the one of frogs, expressed in the increase of ploidy ( number of double-nuclei) of cells during posttraumatic regeneration.