

Как показали наши опыты (1987), препараты протидиум и саморин при правильной дозировке, введенные глубоко внутримышечно, обладают выраженным химиопротидическим действием при трипаномозе крупного рогатого скота, вызванного *T.congolense*, *T.vivax* и *T.brucei*, они предохраняют животных от заражения до 6 месяцев. Однако в наших рекомендациях предпочтение отдано саморину как препарату, имеющему широкий спектр действия, более дешевому и легко применяемому в техническом отношении.

Исходя из вышеизложенного и основываясь на наших данных, саморин с целью профилактики мы применяли в виде 2%-ного водного раствора в загонах 1 и 4, где экстенсивность мух составляла 19%, а интенси́вность +++ , из расчета 1 мг/кг массы животного 3 раза в год, а в загонах 6, 7, 11, 13 и 14, где экстенсивность мух составляла 9-12%, а интенси́вность ++, препарат вводили из расчета 0,5 мг/кг массы животного 2 раза в год.

Для правильного выбора препаратов (концентрация растворов, дозы, кратность применения в год) с целью химиопротидики в неблагополучных по трипаномозу хозяйствах впервые нами перед проведением химиопротидических обработок животных против трипаномоза были установлены видовой состав трипаносом, их переносчиков, интенси́вность инвазивности мух цеце трипаносомами и экстенсивность. Это дает возможность целенаправленно применять дорогостоящие препараты, экономить время и рабочую силу.

Российский препарат ази́дин применялся с лечебной целью при африканских трипаномозах крупного рогатого скота (*T.congolense* и *T.vivax*), и получен положительный лечебный эффект. Однако препарат недостаточно эффективен при трипаномозе, вызванном *T.b.brucei*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Григорьев Г.И. Ж. Азия и Африка, 3, 28, 1967.
2. Постол С.Р. Зоолог. сборник. 21, Ереван, 1987.
3. Степанов А.В. Трипаномозы сельскохозяйственных животных в тропических странах. М., 1978.
4. Armando G.R. Tripanossomoses animals. Annis dos servicos de veterinaria 20/21, 1972/1973, L.Marques.
5. Hoare C.A. The trypanosomes of mammals. Oxford and Edinburgh, 1972.
6. Pollack Y.N. et al. Training Manual for Tsetse control personnel. FAO, Rome, 1, 1970.
7. Richardson U.F., Kendal S.V. Veterinary protozoology Edinburgh, London, 1965.

Получила 10.XI.1995

Биолог. журн. Армении, 3-4 (49), 1996

УДК 576. 3: 576. 311: 616. 37

ИЗМЕНЕНИЯ В СОДЕРЖАНИИ ДНК, ПЛОИДНОСТИ И СОСТАВЕ ПОПУЛЯЦИИ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ У КРЫС

Ю.А. МАГАКЯН, Е.М. КАРАЛОВА, Л.А. АКОПЯН, П.А. ГАБРИЭЛЯН, А.С. КАНАЯН

Институт молекулярной биологии НАН Армении, 375044, Ереван

Цитометрия гепатоцитов крыс при ЭОП показала, что распределение их в популяции по содержанию ДНК и плоидности изменяется в связи со сменой ситуаций на

разных этапах ЭОП, полиплоидные клетки проявляют повышенную устойчивость к действию патогенных факторов. Обсуждается роль гиперрепликации ДНК в функциональной перестройке и адаптации гепатоцитов к экстремальным условиям.

Էքսպերիմենտալ սուր պանկրեատիտի (ԷՍՊ) դեպքում առնետների հեպատոցիտների բջջաֆունդերիան ցույց է տվել, որ ըստ ԴՆԹ-ի քանակության և պոլիդության նրանց բաշխումը պոպուլյացիայում փոխվում է, կախված ԷՍՊ-ի տարրեր փուլերում իրավիճակի փոփոխումից, և պոլիպլոիդ բջիջները ցուցաբերում են բարձր կայունություն պաթոգենիկ գործոնների ազդեցության նկատմամբ: Զննարկվում է ԴՆԹ-ի հիպերռեպլիկացիայի դերը հեպատոցիտների ֆունկցիոնալ վերակազմավորման և նրանց էքստրենալ պայմաններին ադապտացման գործում:

The cytophotometry of the rats hepatocytes at the experimental acute pancreatitis (EAP) have shown their distribution in population by DNA content and ploidy changed at various stages of EAP. The polyploid hepatocytes high stability to the influence of pathogenic factors was revealed. The increasing of their number has accelerated the adaptation process of population to the changed conditions. The role of DNA hyperreplication for hepatocytes functional reconstruction and adaptation in extremal conditions is being discussed.

Панкреатит - гепатоциты-плотность-ДНК

Ранее [1] было показано, что при экспериментальном остром панкреатите (ЭОП) крыс происходят изменения в гистоструктуре печени, функциональном состоянии гепатоцитов, их ДНК-синтезирующей и митотической активности и содержании гликогена в цитоплазме, отражающие двухэтапный процесс защитно-реактивной активации клеток, который согласуется по срокам и характеру проявления с обнаруженным нами [3,2,4] в популяции экзокринных панкреатитов (ЭП). Вначале под действием токсинов, образующихся при некрозе ткани поджелудочной железы (ПЖ) и поступающих в портальный кровоток, включаются внутриклеточные (резервные), а затем популяционные механизмы регуляции, способствующие быстрой адаптации к изменившимся условиям, стабилизации функционирования клеток в этих условиях, восстановлению численности гепатоцитов и структуры популяции. Было установлено также, что при прохождении критических фаз в развитии ЭОП возрастает доля двуядерных (полиплоидных) клеток. Исходя из этого и концепции Магаляна [5,6] о роли гиперрепликации ДНК в повышении надежности защитных механизмов, что часто проявляется в образовании двуядерных клеток, мы предположили, что и при панкреатите не исключена вероятность активации механизма гиперрепликации ДНК и увеличения числа не только двух-, но и одноядерных полиплоидных клеток, а также умножения геномов ядер в двуядерных гепатоцитах. Для решения этой задачи были предприняты цитофотометрическое исследование содержания ДНК в ядрах и анализ распределения клеток в популяции по этому параметру.

Материал и методика. У белых крыс весом 200г в дуоденальном сегменте ПЖ индуцировали ЭОП путем охлаждения хлорэтилом селезеночного сегмента. Через 6ч, а затем на 1, 3, 7, 14, 20, 21, 22 и 30 сутки крыс забивали (по 5 голов на каждый срок), кусочки печени фиксировали в смеси этанола, уксусной кислоты (3:1) и 2 %-ного формалина и готовили парафиновые срезы (5мкм). Параллельно делали отпечатки. Контролем служили интактные и прооперированные крысы, ПЖ которых не подвергалась обработке хлорэтилом (подробности см. в [1, 3]).

Для выявления ДНК препараты окрашивали по Фельгену [7]. Количество ДНК в ядрах (по 100 клеток на каждый случай) определяли с помощью телевизионного анализатора изображений и микроскопа-фотометра SMP-05 (OPTON, ФРГ). Значения количества ДНК-фуксина (в единицах плотности, е), полученные на отпечатках ядер, использовали в качестве эталонных. На срезах определяли общее число, доли одно-, двуядерных и жизнеспособных (по состоянию ядра и цитоплазмы) клеток в 0,01мм² препарата.

Результаты и обсуждение. В контроле выявлено типичное для здоровых крыс распределение одно- и двуядерных клеток по классам плотности (рис., а): несколько более

60% популяции составляют диплоидные (в том числе циклирующие) клетки, а остальная часть представлена полиплоидными (большая часть двуядерными) элементами. Через 6ч после индукции ЭОП характер распределения заметно меняется. Появляются гиподиплоидные и возрастает число одно- и двуядерных гипотетраплоидных и гипоктаплоидных гепатоцитов (рис., б). Гиподиплоидия является в данном случае следствием деградации и пикноза ядер под действием токсических веществ, поступающих в портальный кровоток при распаде ткани ПЖ на первом этапе ЭОП. Теми же причинами (а не нарастанием числа синтезирующих ДНК клеток) обусловлено увеличение доли клеток с "промежуточными" значениями содержания ДНК, так как, по нашим данным [1], индекс мечения клеток Н-тимидином в это время остается на контрольном уровне (4%), доля 2с, 4с и (4с+4с) гепатоцитов сокращается в 2-2,5 раза, а 8с и 16с клетки вообще отсутствуют (рис., б). Отметим, что при этом в 1,5 раза увеличивается доля (2с+2с) клеток и в результате несколько возрастает фракция двуядерных гепатоцитов в целом. Подчеркнем, что двуядерные клетки, как показано ранее [1], более устойчивы к атаке панкреатогенных токсинов. Об этом

свидетельствует расчет, произведенный на основании данных рисунка (б), за вычетом клеток, синтезирующих ДНК (см. выше): клетки, в ядрах которых в результате пикнолиза содержание ДНК снижено, составляют 65% фракции одноядерных гепатоцитов и лишь 33%-двуядерных.

В 1 сутки, когда завершается фаза "первичного аффекта" и начинаются восстановительные процессы в ПЖ и печени [1, 3], картина распределения клеток по плоидности меняется (рис., в). Несмотря на некоторое увеличение доли гиподиплоидных клеток, на 30% возрастает число 2с клеток, но это связано не с интенсификацией их митотической активности [1], а с делением (2с+2с) клеток, численность которых сокращается вдвое и не сопровождается увеличением числа двуядерных клеток с пониженным содержанием ДНК в ядрах (рис., в). При этом на 37% возрастает доля гипотетраплоидных гепатоцитов, что также обусловлено не деградацией 4с клеток, доля которых увеличивается на 10%, а нарастанием ДНК-синтезирующей активности в популяции почти в 3 раза [1]. Пополнение же фракции 4с клеток происходит, как видим, за счет деления (4с+4с) клеток, которые, в отличие от предшествующей фазы, обнаруживаются в популяции (рис., в). На основании этих данных можно предположить, что деятельность популяционных механизмов регуляции на данном (переломном) этапе панкреатита направлена прежде всего на восполнение потерь среди активно функционирующих 2с и 4с клеток. Именно с этим следует связывать начало восстановительных процессов в печени, что проявляется в возрастании числа синтезирующих ДНК клеток и интенсификации их гликогенообразующей функции [1]. Однако процессы некролиза и деградации клеток в печени на этом не прекращаются. Можно видеть, что и на 3 сутки ЭОП (рис., г) выявляются гиподиплоидные, 4с, (2с+2с), 8с и (4с+4с) клетки с

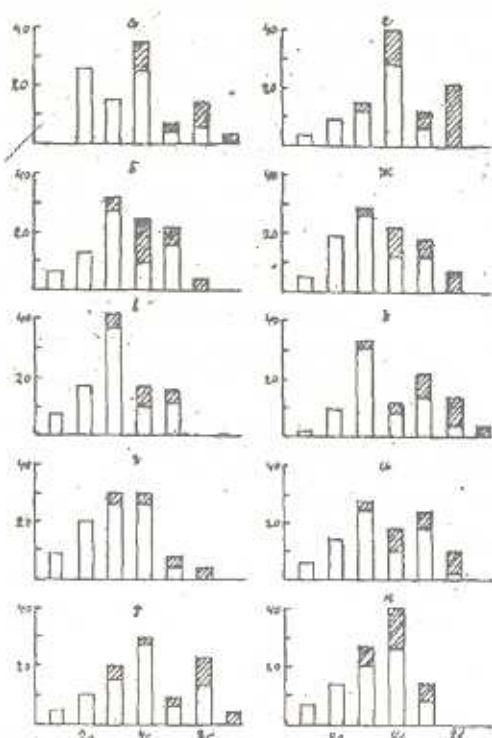


Рис. Распределение гепатоцитов крыс по классам плоидности при экспериментальном остром панкреатите.

По горизонтали - классы плоидности, с. По вертикали - число клеток, %.

Светлые столбики - одноядерные, заштрихованные - двуядерные клетки.

а - контроль, от б-к соответственно 6ч, 1-, 3-, 7-, 14-, 20-, 21, 22-, 30-е сутки после индукции панкреатита.

пониженным содержанием ДНК в ядрах. Но численность их значительно сокращается, а если учесть, что наличие в популяции клеток с "промежуточным" содержанием ДНК в ядрах на этом этапе связано главным образом с прохождением ими S-фазы цикла и что увеличение доли клеток с нормальным содержанием ДНК в ядрах продолжается, то можно говорить о развитии процесса восстановления структуры печени и функционирования клеток. Налицо двойственность ситуации, обусловленная альтернативностью процессов деградации и регенерации органа. Важно, что при этом более чем в 2 раза увеличивается доля 4с клеток и вновь появляются (4с+4с) клетки. Накопление одно- и двуядерных клеток высокой плоидности идет вплоть до 14 сут ЭОП. Уже на 7 сут в результате возрастания активности синтеза ДНК [1] отмечается увеличение доли 4с и (4с+4с) и появление значительного количества 8с и даже 16с клеток (рис., д). К 14 сут фракция двуядерных клеток достигает наибольшего объема в популяции (42%) прежде всего за счет возрастания числа (2с+2с) и (4с+4с) клеток (рис., е). Однако восстановительные процессы, достигнув пика к 7 сут, затем несколько ослабевают и с 14 сут выходят на "плато", когда между ними и процессами деградации устанавливается некое равновесное состояние. Именно в это время решается вопрос "кто кого", и на нашей модели панкреатита решение его оказывается не в пользу первых: восстановительные процессы идут на спад, и болезнь переходит в хроническое состояние. Уже на 14 сут отмечается отсутствие 8с и 16с клеток, а появление их вновь в небольшом числе на 21 сут не меняет картины деградации немалой части популяции, что проявляется в морфологических признаках цито- и нуклеолиза [1] и увеличении доли клеток с пониженным содержанием ДНК (рис., з). Именно с пониженным, а не "промежуточным", так как число синтезирующих ДНК клеток в это время также резко снижается [1]. Превалирование в популяции 4с и (2с+2с) клеток, наблюдающееся на 30 сут (рис., к), свидетельствует о большей устойчивости их к этой новой атаке панкреатогенных токсинов.

Анализ результатов наших исследований, представленных в предыдущей и данной статьях, свидетельствует о том, что популяция гепатоцитов является динамичной и реактивной системой. Это находит отражение в кинетике синтеза ДНК, митотической активности, накоплении и расходовании энергетических ресурсов [1] и в постоянном перераспределении состава популяции по плоидности. Подтверждают сказанное данные, характеризующие кинетику метаболизма белков в гепатоцитах при ЭОП, которые представлены в следующем сообщении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акопян Л.А., Габриэлян Н.А., Канаян А.С., Каралова Е.М., Магакян Ю.А. Цитология, 36, 8, 829, 1994.
2. Каралова Е.М., Араратян Л.А., Габриэлян Н.А., Канаян А.С., Магакян Ю.А. Цитология, 32, 9, 893, 1990.
3. Каралова Е.М., Габриэлян Н.А., Канаян А.С., Магакян Ю.А. Цитология, 32, 4, 337, 1990.
4. Каралова Е.М., Канаян А.С., Араратян Л.А., Габриэлян Н.А., Магакян Ю.А. Цитология, 32, 12, 1205, 1990.
5. Магакян Ю.А. Итоги науки и техники. Сер.: Общие проблемы физико-химической биологии. 15, М., 1990.
6. Магакян Ю.А., Каралова Е.М. Итоги науки и техники. Сер.: Общие проблемы физико-химической биологии. 16, М., 1991.
7. Магакян Ю.А., Каралова Е.М. Цитофотометрия ДНК. Ереван, 1989.

Поступила 22. IZ 1996