

Rikalo N. A. Механізми репаративної регенерації тканини печінки у статевонезрілих щурів при хронічному токсичному гепатиті = The mechanisms of reparative regeneration of liver tissue in immature rats at chronic toxic hepatitis. *Journal of Education, Health and Sport*. 2015;5(9):587-598. ISSN 2391-8306. DOI [10.5281/zenodo.31627](https://doi.org/10.5281/zenodo.31627)  
<http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.31627>  
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/2015%3B5%289%29%3A587-598>  
<https://pbn.nauka.gov.pl/works/639447>  
Formerly *Journal of Health Sciences*. ISSN 1429-9623 / 2300-665X. Archives 2011–2014 <http://journal.rsw.edu.pl/index.php/JHS/issue/archive>

**Deklaracja.**

Specyfika i zawartość merytoryczna czasopisma nie ulega zmianie.  
Zgodnie z informacją MNiSW z dnia 2 czerwca 2014 r., że w roku 2014 nie będzie przeprowadzana ocena czasopism naukowych; czasopismo o zmienionym tytule otrzymuje tyle samo punktów co na wykazie czasopism naukowych z dnia 31 grudnia 2014 r.

The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1089. (31.12.2014).

© The Author (s) 2015;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland and Radom University in Radom, Poland Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.  
Received: 02.08.2015. Revised 05.09.2015. Accepted: 29.09.2015.

УДК: 591.436:599.323.4:616.36-002

**МЕХАНІЗМИ РЕПАРАТИВНОЇ РЕГЕНЕРАЦІЇ ТКАНИНИ ПЕЧІНКИ У  
СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ТОКСИЧНОМУ ГЕПАТИТІ  
THE MECHANISMS OF REPARATIVE REGENERATION OF LIVER TISSUE IN  
IMMATURE RATS AT CHRONIC TOXIC HEPATITIS**

**Н. А. Рикало**

**N. A. Rikalo**

**Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова**

**Vinnitsia National Pirogov memorial Medical University**

**Abstract**

In experiments on immature white laboratory male rats investigated mechanisms of reparative regeneration of liver tissue by flow cytometry on the model of chronic toxic hepatitis induced by intragastric administration  $\text{CCl}_4$  and 5% ethanol solution for 60 days.

The number of nuclei in phases  $G_0$ - $G_1$  of cell cycle decreases, resulting from highly alteration of hepatocytes, which are the most sensitive to the injury and also as a result of mobilization of reserves ( $G_0$  phase) for regeneration were established. The percent of nuclei in S- phase was higher by 1.5 times, which proves activation of DNA synthesis in response to alteration. This testified about compensatory activation of reparative regeneration of liver cells. Alteration of liver parenchyma by hepatotoxins that manifests by processes of necroapoptosis and simultaneously activation of the cell cycle, transformation of  $G_0$  phase to phase  $G_1$ , S,  $G_2M$ , indicates the inclusion of protective mechanisms of reparative regeneration.

The characteristic feature of the population of immature hepatocytes of rats with experimental chronic toxic hepatitis is an increase in nuclear DNA ploidy more than  $8c$  (in 2,2 times,  $p < 0,01$ ), the decrease in the percentage of nuclei in the range  $G_0/G_1$  (in 7,1%,  $p < 0,01$ ), an increase - in the S-phase (in 58,3%,  $p < 0,05$ ) increase in proliferation index (in 23,0%,  $p < 0,01$ ) and fragmentation of nuclear DNA (in 2 times,  $p < 0,001$ ). On the results of experimental studies proved that reparative regeneration

of the liver tissue of immature rats at ethanol and  $\text{CCl}_4$  chronic injury develops by the mechanism of polyploidy hepatocytes that are more resistant to damaging factors, but do not perform specialized functions.

**Key words: chronic toxic hepatitis reparative regeneration, hepatocytes.**

**Резюме.** У дослідях на статевонезрілих білих лабораторних щурах-самцях досліджували механізми репаративної регенерації тканини печінки методом проточної цитометрії на моделі хронічного токсичного гепатиту, спричиненого інтрагастральним введенням  $\text{CCl}_4$  та 5% розчину етанолу протягом 60 днів.

Установлено, що кількість ядер клітин, які перебували у фазах  $G_0$ - $G_1$ , була достовірно меншою, що може бути наслідком альтерації високоспеціалізованих гепатоцитів, які є найбільш чутливими до ушкодження, а також мобілізації резервів ( $G_0$  фаза) для забезпечення регенерації. Відсоток ядер у S-фазі був більшим у 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), що доводить посилення синтезу ДНК у відповідь на альтерацію, тобто відбувається компенсаторна активація процесів репаративної регенерації клітин печінки. Альтерація паренхіми печінки гепатотоксинами, яка проявляється процесами некроаптозу і одночасно активує клітинний цикл, тобто перехід клітин з фази спокою ( $G_0$ ) у фази  $G_1$ , S,  $G_2M$ , свідчить про включення захисних механізмів репаративної регенерації.

Характерною ознакою популяції гепатоцитів статевонезрілих щурів при експериментальному хронічному токсичному гепатиті є збільшення плоїдності ядерної ДНК  $>8c$  (у 2,2 раза,  $p < 0,01$ ), зменшення відсотку ядер в інтервалі  $G_0/G_1$  (на 7,1 %,  $p < 0,01$ ), збільшення – у S-фазі (на 58,3 %,  $p < 0,05$ ), збільшення індексу проліферації (на 23,0 %,  $p < 0,01$ ) та фрагментації ядерної ДНК (у 2 рази,  $p < 0,001$ ). За результатами проведеного експериментального дослідження доведено, що репаративна регенерація тканини печінки статевонезрілих щурів при хронічному ушкодженні  $\text{CCl}_4$  у поєднанні з етанолом, відбувається за механізмом поліплоїдії гепатоцитів, які більш стійкі до дії ушкоджуючи факторів, але не здатні повною мірою виконувати спеціалізовану функцію.

**Ключові слова: хронічний токсичний гепатит, репаративна регенерація, гепатоцити.**

Нормальний і репаративний ріст будь-якого органу, як відомо, може здійснюватися за рахунок трьох клітинних механізмів: збільшення кількості клітин (проліферація), збільшення числа геномів у клітинах (поліплоїдизація) та за рахунок росту цитоплазми клітин, не пов'язаного з їх проліферацією та поліплоїдизацією (гіпертрофія) [1-3].

Репаративна регенерація патологічно зміненої печінки може відбуватися як шляхом збільшення об'єму функціонуючої паренхіми, так і шляхом резорбції надлишку утвореного

колагену, і спрямована в першу чергу на нормалізацію стромально-паренхіматозних взаємовідносин. Недостатність репаративної регенерації може слугувати передумовою хронізації патологічного процесу в органі [4-6].

Класичною моделлю для відтворення типових патологічних процесів у печінці вважається токсичний гепатит, спричинений  $CCl_4$ . Введенням  $CCl_4$  й етанолу можна порівняно легко і швидко викликати білкову та жирову дистрофію печінки, розлади кровообігу, порушення екскреції жовчі, тоді як фіброзування органу, особливо за типом цирозу, відбуваються лише при певних умовах досліду та тривалого експерименту [7-12].

Враховуючи, що передумовою хронізації патологічного процесу в печінці є недостатність репаративної регенерації [1, 4, 6], актуальним є дослідження її клітинних механізмів [13].

**Мета:** дослідити механізми репаративної регенерації тканини печінки у статевонезрілих щурів на моделі хронічного токсичного гепатиту.

**Методика.** Експерименти проводили на 40 статевонезрілих білих лабораторних щурах-самцях з початковою масою 50-60г, яких утримували у віварії ВНМУ імені М.І. Пирогова за загальноприйнятими правилами. Експериментальні групи формували методом випадкової вибірки з урахуванням віку та маси тіла тварин. Експерименти на тваринах здійснювали у відповідності до Правил проведення робіт з використанням лабораторних тварин (1977), Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей (Страсбург, 1986), Директиви ЄЕС №609 (1986) та наказу МОЗ України №281 від 01.11.2000 р. «Про заходи щодо подальшого вдосконалення організаційних норм роботи з використанням експериментальних тварин».

Хронічний токсичний гепатит (ХТГ) моделювали у 20 щурів за розробленою нами методикою шляхом інтрагастрального введення  $CCl_4$  та 5 % розчину етанолу протягом 60 діб [14]. До контрольної групи увійшло 20 інтактних щурів. Після завершення експериментів наступного дня здійснювали виведення тварин з експерименту шляхом одномоментної декапітації під легким ефірним наркозом. Печінку тварин негайно вилучали. У стерильних умовах під капсулою з лівої великої частки із свіжого матеріалу вирізали шматочок тканини печінки розміром  $0,5 \text{ см}^3$ , який негайно промивали стерильним 0,9 % розчином  $NaCl$  і занурювали у фосфатно-сольовий буфер рН 7,4 (Sigma, США) в переносний холодильник з температурою  $4-8^\circ\text{C}$  для подальшого дослідження вмісту ДНК в ядрах клітин печінки методом проточної цитометрії (МПЦ). Враховуючи той факт, що регенерація різних ділянок печінки відбувається неоднаково [15], ми проводили забір зразків тканини печінки для проведення досліджень МПЦ з аналогічної ділянки в усіх піддослідних тварин (ліва велика частка). Вміст ДНК в ядрах клітин печінки, ізольованих з тканини печінки щурів з експериментальним

хронічним токсичним гепатитом, а також інтактних тварин, досліджувався МПЦ. Суспензії ядер з клітин печінки одержували за допомогою набору для дослідження ядерної ДНК CyStain DNA фірми Partec (Німеччина) відповідно до протоколу-інструкції виробника. Даний набір дозволяє швидко і одночасно проводити екстракцію ядер і мітити ядерну ДНК диамідинофеніліндолом (ДАПІ), який використовується для визначення вмісту ядерної ДНК, а також для аналізу клітинного циклу (КЦ) [16, 18] і входить до складу даного набору. Всі дослідження виконані в стерильних умовах на свіжому матеріалі тканини печінки не пізніше, ніж через 2 години після виведення тварини з експерименту. Печінку подрібнювали на шматочки розміром приблизно 1-2 мм<sup>3</sup> з наступною обробкою ДАПІ. Отриману нуклеарну суспензію тканини печінки пропускали через одноразові фільтри CellTrics з діаметром 50 мкм.

Проточний аналіз проводився на багатофункціональному науково-дослідному проточному цитометрі "Partec PAS" фірми Partec (Німеччина) у Науково-дослідному центрі ВНМУ ім. М.І. Пирогова. Для ініціації флуоресценції ДАПІ використовувалася ртутна УФ-лампа, реєстрація відбувалася в УФ-спектрі. Із кожного зразка нуклеарної суспензії аналізувалося не менше 20 тисяч подій.

У сироватці крові визначали вміст загального білку, альбуміну, АЛТ, АСТ, тимолової проби, рівень загального, прямого та непрямого білірубіну, лужної фосфатази (ЛФ),  $\beta$ -ліпопротеїдів та  $\gamma$ -глутамілтранспептидази (ГГТП) на біохімічному аналізаторі «Vital Microlab 300» (США), з використанням реактивів фірми «Pointe Scientific Inc» (США). Стан ПОЛ визначали за рівнем малонового діальдегіду (МДА) у сироватці крові за реакцією з тіобарбітуровою кислотою (Владимиров, 1972).

Статистичний аналіз проведений в пакеті "STATISTICA 5.5" з використанням непараметричних методів оцінки одержаних даних. Оцінювали правильність розподілу ознак за кожним з отриманих варіаційних рядів, середні значення за кожною ознакою, що вивчається, стандартні помилки та відхилення. Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою U-критерію Мана-Уїтні. Аналіз кореляційних зв'язків отриманих результатів проводили за Спірменом.

**Результати та їх обговорення.** При ушкодженні печінки статевонезрілих щурів CCl<sub>4</sub> та етанолом, за допомогою МПЦ встановлено, що кількість ядер клітин, які перебували у фазах G<sub>0</sub>-G<sub>1</sub>, була достовірно меншою, що може бути наслідком альтерації високоспеціалізованих гепатоцитів, які є найбільш чутливими до дії ушкоджуючих факторів, а також мобілізації резервів (G<sub>0</sub> фаза) для забезпечення регенерації.

Особливу увагу ми звертали на зміни S-фази КЦ, оскільки саме цей показник використовується як основний параметр оцінки регенераційного статусу [15, 16]. Так при ХТГ відсоток ядер у S-фазі був більшим у 1,5 раза (p<0,05) (Табл.1), що доводить посилення синтезу

ДНК у відповідь на альтерацію, тобто відбувається компенсаторна активація процесів репаративної регенерації клітин печінки. Спостерігалася тенденція до більшого відсотка ядер у інтервалі G<sub>2</sub>M та достовірне зростання індексу проліферації (PI), що свідчило про наявність репаративної регенерації клітин печінки у відповідь на дію гепатотоксинів.

Таблиця 1

Фази клітинного циклу та плоідність ядерної ДНК клітин печінки статевонезрілих щурів при експериментальному ХТГ, M±σ

| Показники                          | Контроль, n=16 | ХТГ, n=16                 |
|------------------------------------|----------------|---------------------------|
| G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> (%) | 76,48±2,53     | 71,08±3,65**              |
| S (%)                              | 2,30±0,73      | 3,64±1,54*                |
| G <sub>2</sub> M (%)               | 21,22±3,09     | 25,27±4,04 <sup>(*)</sup> |
| PI (%)                             | 23,52±2,53     | 28,92±3,65**              |
| Sub-G <sub>1</sub> (%)             | 2,57±0,55      | 5,32±1,66***              |
| 2c %                               | 76,60±5,72     | 69,93±3,71*               |
| 4c %                               | 17,91±4,91     | 21,52±2,69                |
| 8c %                               | 3,23±1,18      | 3,64±0,82                 |
| понад 8c %                         | 2,26±1,16      | 4,91±1,58**               |

Примітка: \* – достовірна відмінність у порівнянні з контрольною групою (\* – p<0,05, \*\* – p<0,01, \*\*\* – p<0,001); # – достовірна відмінність у порівнянні з нелікованою групою порівняння (# – p<0,05, ## – p<0,01, ### – p<0,001).

Альтерація паренхіми печінки гепатотоксинами, яка проявляється процесами некроаптозу і одночасно активує КЦ, тобто перехід клітин з фази спокою (G<sub>0</sub>) у фази G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub>M, свідчить про включення захисних механізмів, спрямованих на збереження органу.

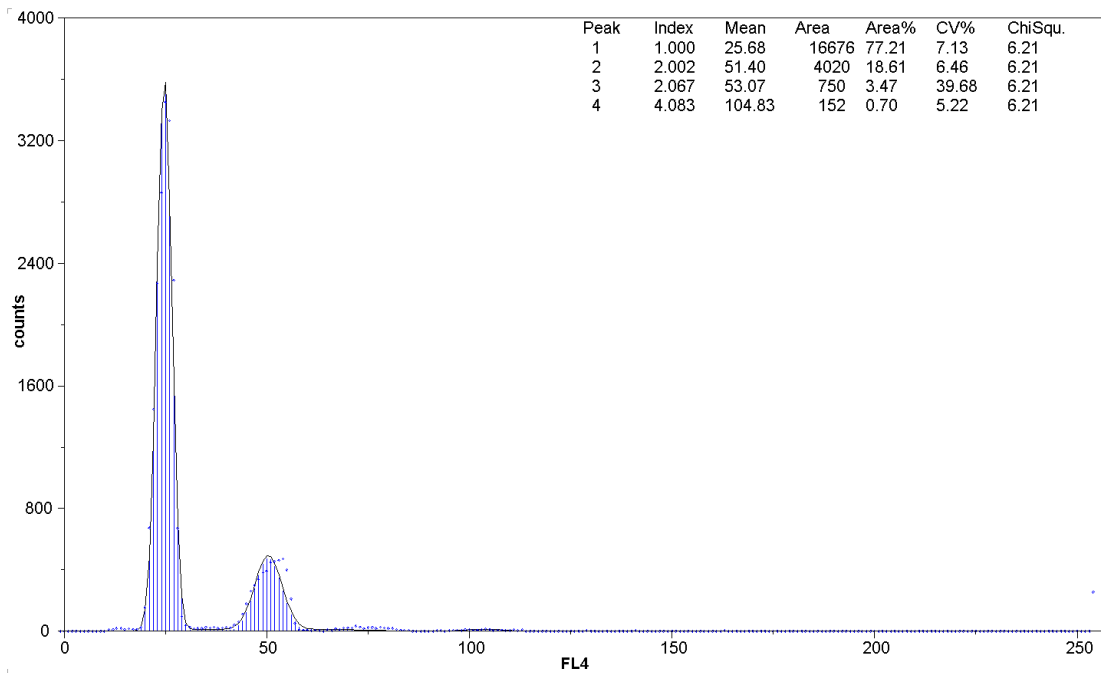
Уведення гепатотоксинів статевонезрілим щурам спричиняло фрагментацію ядерної ДНК клітин паренхіми печінки. Свідченням цього було збільшення RN-інтервалу (субдиплоїдної ділянки) на гістограмах, зростання у 2 рази (p<0,001) рівня фрагментації ДНК ядер, що, за даними [17, 18], свідчить про розвиток незворотного ушкодження клітин, тобто патогенно індукованого апоптозу. Між показником фрагментації ДНК та фазою синтезу ДНК (S-фаза) встановлено прямий кореляційний зв'язок (r=0,28, p<0,001). Тобто посилення патогенно індукованого апоптозу, який синхронно з некрозом відбувався у тканині печінки в умовах поєднаної дії CCl<sub>4</sub> та етанолу, прямо корелював із компенсаторним посиленням фази синтезу ДНК у гепатоцитах, проте воно було недостатнім для повного відновлення структури і функції органу.

Ушкодження печінки у статевонезрілих тварин поєднаною дією двох гепатотоксинів, яке проявлялося загибеллю клітин паренхіми, стимулювало регенерацію органу для відновлення його маси. Вважають, що основним джерелом відновлення маси печінки після її часткової резекції є проліферація зрілих диференційованих гепатоцитів. У літературі описано, що ці

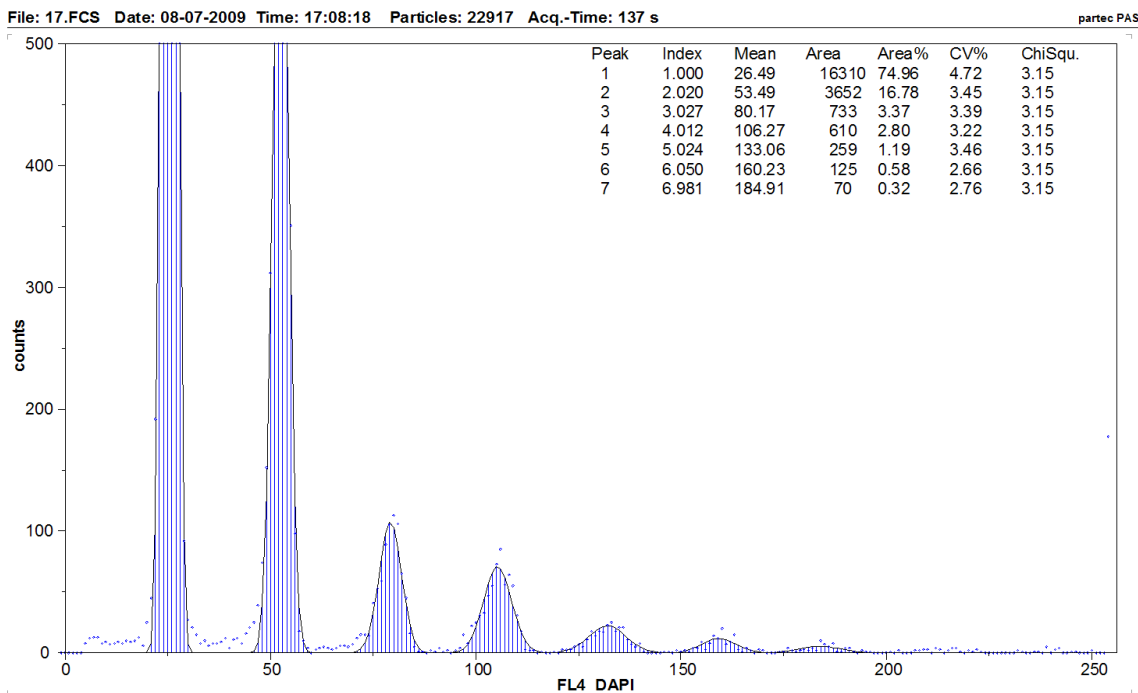
клітини здатні поєднувати тканинноспецифічні і проліферативні синтези. Тому головним механізмом збільшення кількості диплоїдних гепатоцитів в регенеруючій нормальній і патологічно зміненій печінці слід вважати їх проліферацію [13].

У наших експериментах у тварин із етанол+CCl<sub>4</sub>-індукованим гепатитом спостерігали зменшення кількості 2с-гепатоцитів на 8,7 % ( $p < 0,05$ ) (див.табл.1), що свідчить про їх ушкодження, оскільки відомо, що вони є надзвичайно чутливими до дії патогенних чинників [24]. Паралельно відбувалося достовірне та значне збільшення кількості поліплоїдних клітин з кількістю ДНК у ядрі  $>8c$  (Табл.1). Отримані результати узгоджуються з даними літератури [19-21], які також констатують зменшення кількості 2с та збільшення 8с клітин при альтерації печінки, що спричинено оксидативним стресом, який є своєрідним мітогеном і індукує збільшення плоїдності ДНК при виснаженні систем антиоксидантного захисту. Це може бути своєрідним захисним механізмом проти руйнування клітин при дії ушкоджуючих чинників. Проте нами встановлено, що збільшення плоїдності ДНК клітин печінки не веде до збільшення їх реплікативної здатності, а, навпаки, її знижує. Подібну закономірність пояснюють виснаженням проліферативного потенціалу поліплоїдних гепатоцитів при оксидативному ушкодженні [21]. Більша у порівнянні з нормою частка поліплоїдних клітин є характерною особливістю популяції гепатоцитів у патологічно зміненій печінці [13].

У наших спостереженнях через шість тижнів від початку експерименту кількість ядер у S-фазі була у 1,5 раза більшою, ніж у контролі. Типовим варіантом регенерації ушкодженої печінки була поліплоїдизація ядер гепатоцитів з появою нетипових для здорових тварин відповідного віку ядер гепатоцитів із набором ДНК 32с, 64с і більше (Рис.1). При ХТГ відсоток поліплоїдних ( $>8c$ ) ядер був більшим у 2,2 рази ( $p < 0,01$ ), що підтверджувалося оберненим кореляційним зв'язком середньої сили між диплоїдним та поліплоїдним ( $>8c\%$  набором ДНК ( $r = -0,61$ ,  $p < 0,001$ ) та узгоджується з даними літератури [13, 19-21], які констатують аналогічне у статевозрілих тварин. Деякі автори розглядають поліплоїдію як механізм еволюційного пристосування, що відображає високий ступінь незворотної печінковоклітинної диференціації, який знижує ризик геномних ушкоджень печінки. Збільшення кількості поліплоїдних гепатоцитів при етанол-індукованому гепатиті пояснюється як антирегенераторний ефект етанолу на гепатоцити [22].



### Контроль



### ХТГ

Рис. 1. Розподіл ядер клітин печінки статевонезрілих щурів за класами плоідності. Цифрові дані (зліва-направо) : Peak – номер піку (1 – 2с, 2 – 4с, 3 – 8с, 4 – 16с, 5 – 32с, 6 – 64с, 7 – 128с); Area % – відсоток ядер певного піку.

Поліплоїдія, з одного боку, оцінюється як ознака виразного ушкодження і передчасного старіння гепатоцитів [20], оскільки вона обумовлена активацією процесів перекисного окиснення ліпідів, продукти якого є своєрідним стимулятором і можуть індукувати збільшення наборів ДНК [21, 22], з іншого – це є своєрідний захисний механізм на дію гепатотоксинів,

адже відомо [19, 24], що поліплоїдні клітини є більш стійкими до дії патогенних чинників. Ми погоджуємось з останньою думкою. Поліплоїдія при ХТГ у статевонезрілих тварин є захисним механізмом проти руйнування клітин, спрямованим на виживання органу в цілому, та для підтримання спеціалізованої функції. Поліплоїдизація є одним із механізмів репаративної регенерації гепатоцитів, який проявляється, наприклад, проліферацією та гіпертрофією [13].

Таким чином, за даними цитофлуориметричного дослідження ядер печінкових клітин, можна стверджувати, що одним із механізмів репаративної регенерації печінкових клітин статевонезрілих щурів при етанол+CCl<sub>4</sub>-індукованому хронічному ушкодженні є поліплоїдизація ядер гепатоцитів. Він не є достатньо ефективним і не може забезпечити повну регенерацію ушкодженої печінки, оскільки гепатоцити із високим рівнем плоїдності володіють меншою проліферативною здатністю [13, 21, 23]. У наших спостереженнях проліферація спеціалізованих диплоїдних печінкових клітин не була достатньою, що створювало умови для розвитку ЦП.

При обчисленні важливого показника регенерації – співвідношення між 2с % та 4с % ядрами, встановлено його зниження при ХТГ внаслідок зменшення відносної кількості 2с ядер та одночасного збільшення відсотка 4с ( $r=-0,93$ ,  $p<0,001$ ). Це може свідчити про пригнічення регенерації ушкодженого органу, а саме проліферації спеціалізованих гепатоцитів, або переважну загибель 2с-гепатоцитів, спричинену впливом гепатотоксинів.

Установлені кореляційні зв'язки між відсотками 2с та 4с наборів ядерної ДНК ( $r=-0,93$ ,  $p<0,001$ ), між 2с та 8с ( $r=-0,67$ ,  $p<0,001$ ), між 2с та > 8с ( $r=-0,61$ ,  $p<0,001$ ) теж дозволяють стверджувати, що посилення поліплоїдизації ядер гепатоцитів та зменшення відсотка 2с-ядер при дії гепатотоксинів у статевонезрілих тварин, які не отримували лікування, і свідчать про гальмування репаративної регенерації печінки.

Установлено, що кількість альбумінів у плазмі крові обернено корелювала з відсотком ядер гепатоцитів, які перебували у S-фазі КЦ ( $r=-0,8$ ,  $p<0,05$ ), і, навпаки, прямо корелювала з інтервалом G<sub>2</sub>M ( $r=0,76$ ,  $p<0,05$ ). Тобто, посилення синтетичних процесів у ядрі гепатоцитів зменшувало функціональну активність клітин печінки у відношенні синтезу альбумінів, який відновлюється після закінчення S-фази та настання G<sub>2</sub>M інтервалу КЦ. Ми констатуємо, що при збільшенні відсотка октаплоїдних ядер зменшувалась кількість альбуміну ( $r=-0,74$ ,  $p<0,05$ ), що пов'язано із гіршим виконанням спеціалізованої функції клітинами, які вміщують поліплоїдні ядра [24]. Сильні обернені кореляційні зв'язки існують між відсотком 2с-ядер та активністю АЛТ ( $r=-0,73$ ,  $p<0,05$ ), 2с % та активністю ЛФ ( $r=-0,75$ ,  $p<0,05$ ), що показує негативний вплив даних ферментів на стан і проліферацію диплоїдних гепатоцитів.

Доведено, що виразність синдрому цитолізу, свідченням якого було підвищення активності АЛТ і АСТ, зростала паралельно із посиленням фрагментації ДНК ядер гепатоцитів ( $r=0,66$ ,  $p<0,01$  для АСТ). Ці процеси відбувалися паралельно із посиленням синтезу ДНК у ядрі



( $r=0,24$ ,  $p=0,065$  для АСТ), що можна оцінити, як компенсаторно-приспосувальну реакцію у відповідь на альтерацію.

Патологічна поліплоїдизація ДНК ядер гепатоцитів ( $>8c$ ) на тлі введення гепатотоксинів статевонезрілим щурам прямо корелювала з посиленням процесів цитолізу та холестазу, про що свідчило збільшення активності ГГТП у патологічно зміненій печінці ( $r=0,87$ ,  $p=0,054$ ). Збільшення виразності цитолітичного синдрому, свідченням чого було зростання активності АЛТ, поєднувалося зі зменшенням РІ гепатоцитів ( $r=-0,78$ ,  $p<0,05$ ) та посиленням синтезу глобулінів у печінці ( $r=-0,77$ ,  $p<0,05$ ), і підтверджувалося наявністю ознак синдрому мезенхімального запалення. Підвищення рівня МДА у сироватці крові статевонезрілих щурів із ХТГ корелювало зі збільшенням відсотка  $8c$  ( $r=0,95$ ,  $p<0,051$ ), що доводить вплив процесів перекисного окиснення ліпідів на активацію поліплоїдизації [21].

Отже, за результатами проведеного дослідження, нами доведено, що поліплоїдія є характерною ознакою популяції гепатоцитів статевонезрілих щурів, виділених із патологічно зміненої, ураженої гепатотоксинами ( $CCl_4$  у поєднанні з етанолом) печінки.

1. Характерною ознакою популяції гепатоцитів статевонезрілих щурів при експериментальному хронічному токсичному гепатиті є збільшення плоідності ядерної ДНК  $>8c$  (у 2,2 рази,  $p<0,01$ ), зменшення відсотку ядер в інтервалі  $G_0/G_1$  (на 7,1 %,  $p<0,01$ ), збільшення – у S-фазі (на 58,3 %,  $p<0,05$ ), збільшення індексу проліферації (на 23,0 %,  $p<0,01$ ) та фрагментації ядерної ДНК (у 2 рази,  $p<0,001$ ).

2. Репаративна регенерація тканини печінки при її хронічному ушкодженні поєднаною дією етанолу та  $CCl_4$  відбувається за механізмом поліплоїдизації ядер гепатоцитів, які є більш стійкими до дії ушкоджуючих чинників, проте не забезпечують виконання спеціалізованої функції.

3. Подальше вивчення вікових особливостей механізмів ушкодження та репаративної регенерації тканини печінки та інших органів і тканин при дії різних етіологічних чинників дозволить поглибити знання патогенезу та удосконалити патогенетичну терапію різних видів патології.

#### **Список літератури:**

1. Tumansky VA Physiological update and reparative regeneration of specialized cells. Patologiya. 2006; 3 (2): 19-31. Russian.

Туманский В. А. Физиологическое обновление и репаративная регенерация специализированных клеток. Патология. 2006; 3 (2): 19–31.

2. Brodsky W. Uryvaeva I. V. Cell polyploidy: its relation to tissue growth and function. Int. Rev. Cytol. 1997; 50: 275–332.

3. Laconi E. Differential grown from carcinogenesis to liver regeneration. Am. Journal Pathology. 2000; 156: 389–392.

4. Hawryluk AM. Liver regeneration: key mechanisms and morphological manifestations. *Hepatology*. 2008; 2: 16-23. Ukraine.

Гаврилюк О. М. Регенерація печінки : провідні механізми та морфологічні прояви. *Гепатологія*. 2008; 2: 16–23.

5. Dry GT, Calm A. Transplantation of embryonic hepatocytes: experimental validation of a new campaign to treat liver failure. *Bull. Experimental Biology and Medicine*. 2002; 134 (12): 604-610. Russian.

Сухих Г.Т., Штиль А. А. Трансплантация эмбриональных гепатоцитов: экспериментальное обоснование нового подхода к лечению недостаточности печени. *Бюл. Экспериментальной биологии и медицины*. 2002; 134 (12): 604–610.

6. La Brecque D. Liver regeneration : a picture emerges from the puzzle. *Amer. Journal Gastroenterology*. 1994; 89 (8): 86–90.

7. Mansurov ID. Experimental pathology of the liver. Dushanbe: "Donish"; 1976. 215 p. Russian.

Мансуров И.Д. Экспериментальная патология печени. Душанбе: «Дониш»; 1976. 215 с

8. Shiryayeva AP Baydyuk EV Arkadeva AV condition of the respiratory chain of mitochondria of rats with experimental toxic hepatitis. *Cytology*. 2007; 49 (2): 125-132. Russian.

Ширяева А.П. Байдюк Е.В., Аркадьева А. В. Состояние дыхательной цепи митохондрий крыс с экспериментальным токсическим гепатитом. *Цитология*. 2007; 49 (2): 125–132.

9. Moles A., Tarrats N., Fernandez-Checa J. C., Mari M. Cathepsins B and D drive hepatic stellate cell proliferation and promote their fibrogenic potential. *Hepatology*. 2009; 49 (4): 1300–1307

10. Aram G., Potter J. J., Liu X., et al. Deficiency of NAD(P)H oxidase enhances hepatocellular injury but attenuates fibrosis after chronic carbon tetrachloride administration. *Hepatology*. 2009; 49 (3): 902–911.

11. Shiryayeva A., Baidyuk E., Arkadieva A., et al. Hepatocyte mitochondrion electron-transport chain alterations in CCl<sub>4</sub> and alcohol induced hepatitis in rats and their correction with simvastatin. *J. Bioenerg. Biomembranes*. 2008; 40: 27–34.

12. Issa R., Zhou X., Trim N., et al. Mutation in collagen-1 that confers resistance to the action of collagenase results in failure of recovery from CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis, persistence of activated hepatic stellate cells, and diminished hepatocyte regeneration. *FASEB J*. 2003; 17: 47-49.

13. Sakuta GA, Kudryavtsev BN Cellular mechanisms of cirrhotic rat liver regeneration. II. Effect of partial hepatectomy proliferation, polyploidization and hypertrophy of hepatocytes. *Cytology*. 2005; 47 (5): 379-387. Russian.

Сакута Г.А., Кудрявцев Б.Н. Клеточные механизмы регенерации циррозной печени крыс. II. Влияние частичной гепатэктомии на пролиферацию, полиплоидизацию и гипертрофию гепатоцитов. *Цитология*. 2005; 47 (5): 379–387.

14. Rikalo NA, Nezgodа II, Rautskis VA. Sposib modelyuvannya hronichnogo toxic hepatitis that tsiroz pechinki have nestatevozrilih schuriv. Do patenti u2009 03490. 2009 August 25. Ukraine.

Рикало Н.А., Незгода І.І., Рауцкіс В.А. Спосіб моделювання хронічного токсичного гепатиту та цирозу печінки у нестатевозрілих щурів. У патенті u2009 03490. 2009 серпень 25.

15. Sun L., Chow PKH, Fook-Chong SMC, et al. Liver regeneration after partial hepatectomy is non-uniform : flow cytometric bromodeoxyuridine incorporation and cell cycle studies in a porcine model. *Research in Experimental medicine*. 1999; 198: 229–236.

16. Vitale M., Rizolli R., Mazzotti G. Characterization and cell cycle kinetics of hepatocytes during rat liver regeneration : in vivo BrdUrd incorporation analysed by flow cytometry and electron microscopy. *Cell prolifer.* 1991; 24 (3): 331-338.

17. Mushkambarov NN, Kuznetsov S. Molekulyarnaya biology: uchebnoe certainly appreciate med.vuzov for students. MM: "MIA". 2007: 536 p. Russian.

Мушкамбаров Н.Н., Кузнецов С. Л. Молекулярная биология : учебное пособие для студентов мед.вузов. М. : «МИА»; 2007. 536 с.

18. Maier P., Wenk-Siefert I., Schawalder H.P. Cell-cycle and ploidy analysis in bone marrow and liver cells of rats after long-term consumption of irradiated wheat. *Fd Chem. Toxic.* 1993; 31 (6):395–405.

19. Brodsky VY, Uryvaeva IV. Cell polyploidy. Proliferation and differentiation. M: Nauka; 1981. 259 p. Russian.

Бродский В.Я., Урываева И.В. Клеточная полиплоидия. Пролиферация и дифференцировка. М.: Наука; 1981. 259 с.

20. Baydyuk EV, Shiryaev AP, Bezborodkina N., et al. Comparative analysis of morphological and functional indicators of culture of hepatocytes isolated from normal and diseased rat livers. *Cytology*. 2009; 51 (10): 797-805. Russian.

Байдюк Е. В., Ширяева А. П., Безбородкина Н. Н., и др. Сравнительный анализ морфофункциональных показателей культуры гепатоцитов, выделенных из нормальной и патологически измененной печени крыс. *Цитология*. 2009; 51 (10): 797–805.

21. Gorla G.R., Malhi H., Gupta S. Polyploidy associated with oxidative injury attenuates proliferative potential of cells. *J. Cell Sci*. 2001; 114: 2943–2951.

22. Sigal S.H., Rajvanshi P., Gorla G.R., et al. Partial hepatectomy-induced polyploidy attenuates hepatocytes replication and activates cell aging events. *Amer. J. Physiol*. 1999; 276: 1260–1272.

23. Fogt F., Nanji A.A. Alterations in nuclear ploidy and cell phase distribution of rat liver cells in experimental alcoholic liver disease: relationship to antioxidant enzyme gene expression. *Toxicology and applied pharmacology*. 1996; 136 (1): 87–93.

24. Anatskaya OV, Vinogradov AE. Polyploidy, the heart: the protection and weakness. Chemistry and life. 2008; 9: 34-37. Russian.

Анацкая О.В., Виноградов А.Е. Полиплоидия в сердце: защита и слабость. Химия и жизнь. 2008; 9: 34–37.