

## Реферати

**ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ  
РЕАКТИВНОСТИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ГОРТАНИ  
ЧЕЛОВЕКА В ПРЕНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ  
ОНТОГЕНЕЗА**  
Потоцкая О. И.

Исследованы гортани человека в пренатальном периоде онтогенеза. Анализ морфофункциональных особенностей покровного, железистого эпителия и лимфоидных структур слизистой оболочки гортани человека в пренатальном онтогенезе позволил выделить во внутриутробном периоде 3 стадии развития: эмбриональную (3-4 месяца), переходную (5-6 месяцев) и фетальную (7-9 месяцев). Установлено, что в эмбриональной стадии эпителий всех отделов гортани характеризуется высоким синтезом гликогена. Во всех отделах гортани в составе диффузно расположенных лимфоцитов присутствуют PNA+лимфоциты и SBA+лимфоциты. В переходной стадии в клетках поверхностного слоя эпителия и концевых отделах желез гортани синтезируются нейтральные протеогликаны и сиаловые кислоты. В слизистой оболочке и подслизистой основе гортани среди клеток лимфоидного ряда установлено максимальное содержание SBA+ лимфоцитов. В фетальной стадии в покровном эпителии синтезируются нейтральные протеогликаны, сиаловые кислоты и хондроитинсульфаты А и С. Среди лимфоцитов в стенке гортани увеличивается количественное содержание PNA+ лимфоцитов и снижается количество SBA+ лимфоцитов.

**Ключевые слова:** гортань человека, слизистая оболочка, пренатальный период.

Стаття надійшла 2.10.2014 р.

**CHARACTERISTICS OF HUMAN LARYNX  
MUCOSA IMMUNOLOGICAL REACTIVITY IN  
PRENATAL PERIOD OF ONTOGENESIS**  
Pototska O. I.

Investigated human larynx prenatal ontogenesis. Analysis of morphological and functional features of the cover, glandular epithelium and mucosal lymphoid structures in the human larynx prenatal ontogenesis allowed distinguish in utero 3 stages of development: embryonic (3-4 months), transient (5-6 months) and fetal (7-9 months). It is established that in the embryonic stage of the epithelium of larynx characterized high glycogen synthesis. In all parts of the larynx consisting of lymphocytes are present diffusely located PNA + lymphocytes and SBA + lymphocytes. In the transitional stage in the cells of the surface layer of the epithelium and adenomere laryngeal proteoglycans synthesized neutral and sialic acid. In the mucosa and submucosa of the larynx among lymphoid cells established maximum content of SBA + lymphocytes. At the fetal stage in the surface epithelium of the proteoglycans synthesized neutral, sialic acid and chondroitin sulfates A and C, among the lymphocytes in the wall of the throat increases quantitative content PNA + lymphocytes and reduces the amount of SBA + lymphocytes.

**Key words:** human larynx, mucous membrane, the prenatal period.

Рецензент Сілкіна Ю.В.

УДК 616.36-002:599.323.4:601.2:575.853

**Н. А. Рикало, С. Г. Полішкевич**  
Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, м. Вінниця

**ОСОБЛИВОСТІ ПЛОЇДНОСТІ ЯДЕРНОЇ ДНК ГЕПАТОЦИТІВ У ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ  
ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ**

За допомогою методу проточної цитометрії була визначена плоїдність ядерної ДНК у щурів різних вікових груп на тлі хронічного токсичного гепатиту. Виявлено, що в групі тварин з хронічним токсичним гепатитом статистично достовірно більша кількість гепатоцитів з поліплоїдним набором ДНК в порівнянні з інтактними тваринами аналогічного віку. На нашу думку, така особливість зміни співвідношення серед ядер гепатоцитів з різною плоїдністю може бути пояснена тим, що клітини з октаплоїдним та диоктаплоїдним набором ядерної ДНК є резервним пулом, та після припинення дії патогенного чинника знову вступають у клітинний цикл та стають джерелом утворення диплоїдних клітин, оскільки регенерація за рахунок проліферації даного типу гепатоцитів є основним механізмом відновлення маси, структури та функції ушкодженої печінки.

**Ключові слова:** плоїдність, гепатит, вікові особливості.

*Робота є фрагментом НДР «Вікові особливості патогенезу захворювань внутрішніх органів. Патогенетичні підходи до лікування» (№ держреєстрації 0111U008679).*

Відомо, що еукаріотні організми, як правило, містять диплоїдний набір хромосом, але для деяких органів та тканин, зокрема печінки – характерним є наявність великої кількості клітин з поліплоїдним набором генетичного матеріалу, згідно даних Celton-Morizur, 2007 [1].

Дану особливість пояснюють тим фактом, що печінкова паренхіма протягом життя організму зазнає впливу багатьох ушкоджуючих факторів, які призводять до зміни клітинного циклу та, як наслідок, появи поліплоїдних гепатоцитів (4с, 8с та більше) з одним або двома ядрами.

Доведено, що у новонароджених щурів гепатоцити виключно диплоїдні (2с), і поліплоїдизація їх починається лише після закінчення періоду грудного вигодовування [2].

У дорослих еукаріотичних організмів кількість поліплоїдних клітин може змінюватись в залежності від втрати маси органу або дії патогенного фактору. Згідно даних Germain Margall-Ducos (2007 р.), при частковій гепатектомії відмічається активація проліферації гепатоцитів, яка виникає на фоні збільшення кількості поліплоїдних клітин [3]. Відомо, що поліплоїдність – це

один з механізмів, що забезпечує збільшення розмірів та маси клітин, а також покращує їх метаболічну активність та може являти собою альтернативу діленню клітин на рівні з таким процесами, наприклад як проліферація, тощо [4].

Згідно даних літературних джерел загалом процес поліплоїдизації гепатоцитів може розглядатись, як механізм еволюційної адаптації, що відображає збільшення ступеня незворотної гепатоцелюлярної диференціації, яка направлена на зменшення ризику пошкодження геному печінки [5].

Проте, на сьогоднішній день, значення явища поліплоїдності залишається не вивченим до кінця.

**Метою** роботи було вивчення феномену, який відображається в процесах репарації та регенерації ушкоджених органів та тканин з урахуванням вікових особливостей організму.

**Матеріал та методи дослідження.** Дослідження виконали на 30 щурах. Основну групу дослідження склали 15 щурів, які були поділені на наступні групи: група молодих статевонезрілих щурів – 5 тварин, віком 2 міс. (група ХТГ №1), група молодих статевозрілих щурів – 5 тварин, віком 6 міс. (група ХТГ №2), група старих щурів – 5 щурів, віком 18-20 міс (група ХТГ №3). Контроль – 15 інтактних щурів, які також були поділені на три групи, аналогічних за віком.

Експериментальну модель ХТГ на щурах основної групи відтворили за допомогою інтрагастрального введення 20% олійного розчину СС14 з розрахунку 0,1 мл/ 100 г маси тварини тричі на тиждень у поєднанні з 5% розчином етанолу в якості пиття протягом десяти тижнів [Рикало Н.А. та співавт., 2008, патент України № 43704].

Після закінчення експерименту евтаназія тварин здійснювалась під кетаміновим наркозом (0,1мг/100 г ваги, внутрішньом'язово) шляхом декапітації.

Цитофлуометричний аналіз проводили на багатофункціональному науково-дослідному проточному цитометрі «Partec PAS» фірми «Partec», Німеччина в НДЦ ВНМУ ім М.І. Пирогова. Статистичний аналіз отриманих даних було проведено з використанням програми Statistica 6.1 (належить ЦНІТ ВНМУ ім. М.І. Пирогова, ліцензійний номер AXHR910A374605FA) з використанням непараметричних методів дослідження в залежності від розподілу отриманих даних.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Значення плоідності ДНК ядер клітин печінки у щурів основної групи були розподілені згідно вікових груп, з визначенням середньозважених величин та середніх відхилень.

Приклад отриманих даних у молодого статевонезрілого щура з хронічним токсичним гепатитом (ХТГ) наведений на рисунку 1.

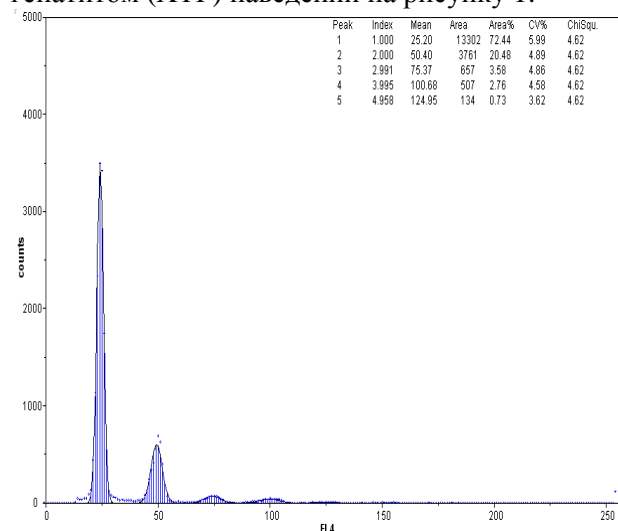


Рис. 1 Гістограма плоідності ядерної ДНК у молодого статевонезрілого щура з ХТГ. Зразок 1m1pl. Примітка: Peak - номер піку (1- 2с, 2 – 4с, 3- 8с, 4-16с, 5 – 32с); Index - відносне положення піка щодо першого піку (або поперечного каналу); Mean - середнє значення піку в каналі; Area - площа піку (Гауса), відповідає кількості частинок, що входять в пік; Area % - процентне співвідношення площі піку до суми площ піків; CV % - відносний коефіцієнт варіації піку (відносна ширина піку відповідності Гауса); ChiSqu - виміряна варіація між експериментальними даними та відповідної математичної моделлю.

Обстеживши групу молодих статевонезрілих щурів з хронічним токсичним гепатитом нами отримані наступні дані: кількість диплоїдних та тетраплоїдних ядер печінкових клітин відповідно була на 2,33 % та 1,51 % ( $P>0,05$ ) менша в основній групі у порівнянні з групою контролю (табл. 1). Слід відмітити збільшення відсотку ядер клітин печінки з плоідністю 8с та 16с в 1,4 та 1,8 рази ( $P<0,05$ ) відповідно у порівнянні з аналогічним показником в групі контролю такого ж віку. Особливу увагу привертає зменшення в 5,6 рази ( $P<0,05$ ) відсотку ядер гепатоцитів з плоідністю ядерної ДНК 32с та більше (64с, 128с) у молодих статевонезрілих щурів основної групи в порівнянні з контролем того ж віку.

Оцінивши отримані показники в групі молодих статевозрілих щурів з хронічним токсичним гепатитом спостерігається більша кількість гепатоцитів з плоідністю ядерної ДНК 8с та 16с в 1,5 рази ( $P<0,05$  та  $P<0,02$  відповідно) у порівнянні з групою контролю (табл. 2).

Таблиця 1

**Показники плідності ядерної ДНК гепатоцитів у молодих статевонезрілих щурів**

Показники плідності ядерної ДНК	Група контролю №1 (n=5)	Група ХГТ №1 (n=5)
2с (%)	78,17±2,73	75,84±2,98
4с (%)	16,98±2,27	18,49±1,58
8с (%)	1,93±0,30	2,72±0,69*
16с (%)	1,49±0,36	2,69±1,13*
32с та більше (%)	1,29±1,38	0,23±0,33*

Примітка: \*P<0,05 – достовірність різниці між показниками основної групи та групи контролю.

Таблиця 2

**Показники плідності ядерної ДНК гепатоцитів у молодих статевозрілих щурів**

Показники плідності ядерної ДНК	Група контролю №2 (n=5)	Група ХГТ №2 (n=5)
2с (%)	78,41±4,12	74,36±4,36
4с (%)	16,27±4,3	19,54±3,47
8с (%)	1,96±0,51	2,85±0,76*
16с (%)	1,9±0,32	2,87±0,66**
32с та більше (%)	1,4±0,83	0,37±0,44***

Примітка: \*P<0,05 – достовірність різниці показників між основною групою та групою контролю. \*\*P<0,02 – достовірність різниці показників між основною групою та групою контролю. \*\*\*P<0,03 – достовірність різниці показників між основною групою та групою контролю

Також, в цій групі обстеження необхідно відмітити зниження в 3,8 раза (P<0,03) відсотку ядер клітин печінки з плідністю ДНК 32с та більше. Статистично достовірної різниці у кількості клітин печінки з диплоїдним та тетраплоїдним набором ядерної ДНК в даній віковій групі не відмічалось.

В результаті проведеного нами аналізу отриманих даних в групі старих статевозрілих щурів нами відмічено, що відсоток клітин печінки з диплоїдним та тетраплоїдним набором ядерної ДНК, а також з набором 8с, 16с, 32с та більше у тварин даної вікової групи статистично достовірно не відрізнявся від аналогічних показників у порівнянні з інтактними тваринами з групи контролю такого ж віку.

Проведений нами статистично - порівняльний аналіз показників плідності ядерної ДНК гепатоцитів щурів групи контролю в залежності від віку достовірної різниці між групами не виявив. Але, слід відмітити, що в усіх вікових групах відмічається переважання клітин з плідністю ядерної ДНК клітин печінки 2с та 4с.

Провівши оцінку результатів дослідження плідності ядерної ДНК гепатоцитів у щурів із ХГТ в залежності від віку нами не встановлено статистично достовірної різниці між показниками різних підгруп. Хоча, можна відмітити тенденцію до зростання кількості ядер гепатоцитів з набором плідності кратної 16с та зменшення клітин з плідністю ядерної ДНК 32с і більше у підгрупі старих статевозрілих щурів у порівнянні з іншими віковими групами.

Таблиця 3

**Показники плідності ядерної ДНК гепатоцитів у старих статевозрілих щурів**

Показники плідності ядерної ДНК	Група контролю №3 (n=5)	Група ХГТ №3 (n=5)
2с (%)	70,58±9,99	74,92±6,96*
4с (%)	22,6±7,89	18,53±4,47*
8с (%)	3,27±1,04	2,58±0,36*
16с (%)	2,46±1,040	3,76±2,26*
32с та більше (%)	1,01±0,93	0,192±0,43*

Примітка: \*P<0,05 – достовірність різниці показників між основною групою та групою контролю.

Таким чином, проаналізувавши отримані нами дані слід відмітити, що у молодих статевонезрілих та статевозрілих щурів з ХГТ відмічається схильність до зменшення клітин печінки з диплоїдних набором ДНК та збільшення тетраплоїдних у порівнянні з групою контролю. Дане явище можна пояснити тим, що гепатоцити з плідністю ядерної ДНК є найбільш чутливими до дії патогенних чинників.

Особливу увагу привертає той факт, що у молодих статевонезрілих та статевозрілих щурів відмічається статистично достовірне зростання кількості гепатоцитів з плідністю 8с та 16с (p<0,05), а також зменшення високоплідних клітин (32с та більше) при їх співставленні з аналогічними показниками групи контролю (p<0,05). Відсутність достовірної різниці у показниках плідності ядерної ДНК клітин печінки у старих статевозрілих щурів з ХГТ у порівнянні з інтактними тваринами аналогічного віку, на нашу думку, можна розцінити, як достовірне

виснаження захисних механізмів, що може бути пов'язано з віковим зниженням резистентності організму.

Беручи до уваги, той факт, що у молодих статевонезрілих та статевозрілих щурів з ХГТ в порівнянні з групою контролю спостерігалось статистично достовірне зростання кількості клітин з плоідністю ядерної ДНК 8с та 16с ( $p < 0,05$ ) можна зробити висновок про залучення даного типу клітин в репаративні та регенеративні процеси. На користь даного феномену також свідчить зменшення гепатоцитів з плоідністю ядерної ДНК 32с та більше (у 4 раза та більше ( $p < 0,05$ )).

#### Висновки

1. Враховуючи отримані дані можна зробити висновок про те, що збільшення поліплоідних ядер (8с, 16с) може мати захисний характер для тканини печінки за умов дії патогенного чинника, оскільки відомо, що диплоідні гепатоцити є самими чутливими до дії пошкоджуючих факторів.
2. На нашу думку, така особливість зміни співвідношення серед ядер гепатоцитів з різною плоідністю може бути пояснена тим, що клітини з октаплоідним та диоктаплоідним набором ядерної ДНК є резервним пулом, та після припинення дії патогенного чинника знову вступають у клітинний цикл та стають джерелом утворення диплоідних клітин, оскільки регенерація за рахунок проліферації даного типу гепатоцитів є основним механізмом відновлення маси, структури та функції uszkodженої печінки.

*Перспективи подальших досліджень.* Дослідження особливостей плоідності ДНК гепатоцитів в умовах хронічного токсичного гепатиту дозволить поглибити знання щодо механізмів репаративної регенерації.

#### Список літератури

1. Celton-Morizur S. Polyploidization of liver cells / S. Celton-Morizur, C. Desdouets // Advances in Experimental Medicine and Biology. -2010. – Vol. 676. –P. -123-135.
2. Guidotti J. E. Liver Cell Polyploidization: A Pivotal Role for Binuclear Hepatocytes / J. E. Guidotti, O. Brégerie, A. Robert [et al.] // The journal of biological chemistry. -2003. - Vol. 278. - No. 21. - P. 19095–19101
3. Margall-Ducos G. Liver tetraploidization is controlled by a new process of incomplete cytokinesis / G. Margall-Ducos, S. Celton-Morizur, C. Dominique [et al.] // Journal of Cell Science. – 2007. - Vol. 120. - №20. - P. 3633-3639.
4. Ravid K. Roads to polyploidy: the megakaryocyte example. / K. Ravid, J. Lu, J. M. Zimmet [et al.] // Journal of Cellular Physiology.- 2002. – Vol.190(1). - P. 7-20.
5. Torres S. Thyroid hormone regulation of rat hepatocyte proliferation and polyploidization / S. Torres, B.P. Díaz, J.J. Cabrera [et al.] // American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology.- 1999. - Vol.276. -P.155-163

#### Реферати

##### ОСОБЕННОСТИ ПЛОИДНОСТИ ЯДЕРНОЙ ДНК ГЕПАТОЦИТОВ У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА

Рыкало Н. А., Полинкевич С. Г.

При помощи метода проточной цитометрии была определена плоидность ядерной ДНК у крыс разных возрастных групп на фоне хронического токсического гепатита. Выявлено, что в группе животных с хроническим токсическим гепатитом статистически достоверно больше гепатоцитов с полиплоидным набором ДНК в сравнении с интактными животными аналогичного возраста. По нашему мнению, такая особенность изменения соотношения среди ядер гепатоцитов с разной плоидностью объяснима тем, что клетки с октаплоидным и диоктаплоидным набором ядерной ДНК является резервным пулом, и после прекращения действия патогенного фактора вновь вступают в клеточный цикл и становятся источником образования диплоидных клеток, поскольку регенерация за счет пролиферации данного типа гепатоцитов является основным механизмом восстановления массы, структуры и функции поврежденной печени.

**Ключевые слова:** плоидность, гепатит, возрастные особенности.  
Статья надійшла 7.10.2014 р.

##### FEATURES NUCLEAR DNA PLOIDY OF HEPATOCYTES IN RATS OF DIFFERENT AGES UNDER CONDITIONS OF CHRONIC TOXIC HEPATITIS

Rikalo N. A., Polinkevich S. G.

Nuclear DNA ploidy was determined by the usage of flow cytometry at the rats of different age groups with chronic toxic hepatitis. Revealed that the group of animals with chronic toxic hepatitis significantly bigger amount of the hepatocytes with polyploid DNA in comparison to the intact animals of similar age. In our opinion, this feature changes of the ratio of hepatocytes nuclei with different ploidy can be explained by the fact that the cells with octaploid and dyoctaploid set of nuclear DNA are a reserve pool, and after termination of the pathogenic factor action re-enter to the cell cycle and become a source of formation of diploid cells because regeneration by proliferation of this type hepatocytes is the main mechanism of mass recovery, the structure and function of the damaged liver.

**Key words:** ploidy, hepatitis, age characteristics.

Рецензент Куц О.Г.