



• Համառոտ հաղորդումներ • Краткие сообщения • Short communications •

Биолог. журн. Армении, 4 (61), 2009

## ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЯДЕРНОЙ ДНК ГЕПАТОЦИТОВ У ПРЫТКОЙ ЯЩЕРИЦЫ *LACERTA AGILIS* ПОСЛЕ ЧАСТИЧНОЙ ГЕПАТЭКТОМИИ

А.Ф. КАРАПЕТЯН, К.А. ДЖИВАНЯН

Ереванский государственный университет, кафедра зоологии,  
E-mail: annakarapetyan@ysu.am

Приводятся результаты экспериментов, которые свидетельствуют об увеличении количества ядерной ДНК в гепатоцитах печени прыткой ящерицы *Lacerta agilis* в течение первого месяца после частичной гепатэктомии. Это явление оценивается как отражение активации пролиферации гепатоцитов. Делается вывод о том, что полиплоидизация ядер гепатоцитов не играет существенной роли в обеспечении восстановительного роста печени у данной группы животных.

*Ящерица – печень – регенерация – ДНК - плоидность*

Բերվում են փորձարարական տվյալներ, որոնք վկայում են մասնակի հեպատեկտոմիայից հետո առաջին ամսվա ընթացքում *Lacerta agilis* ճարպիկ մողեսի լյարդի հեպատոցիտների կորիզային ԴՆԹ-ի քանակության մեծացման մասին: Այդ երևույթը գնահատվում է որպես բջիջների բազմացման պրոցեսների ակտիվացման արտացոլում: Եզրակացվում է, որ հեպատոցիտների կորիզների պոլիպլոիդացումն էական դեր չի կատարում այդ կենդանիների լյարդի վերականգնողական աճի ապահովման մեջ:

*Lacerta agilis -լյարդ-ռեգեներացիա-ԴՆԹ-պլոիդություն*

In the article the results of experiments are presented, which testify to increase in quantity of nuclear DNA in hepatocytes of the liver of *Lacerta agilis* during the first month after partial hepatectomy. The given phenomenon is estimated as activation cogitation of hepatocytes proliferation. A conclusion is made that hepatocytes polyploidization of nucleus does not play an essential role in maintenance of regenerative growth of a liver at the given group of animals.

*Lacerta agilis – liver- regeneration – DNA – ploidy*

Вопросы сравнительного изучения регенерации печени в филогенетическом ряду позвоночных животных актуальны, что в значительной – степени определяется необходимостью всесторонней разработки вопросов об источниках восстановительного роста данного органа и о механизмах его регуляции.

В этой связи мы учитываем, что сравнительно-исторический аспект любого биологического феномена - весьма плодотворный путь, который помогает изучить отдельные элементы процесса, установить их взаимосвязь и тем самым придти к пониманию явления в целом [2].

Известна высокая активность восстановительной реакции печени млекопитающих после утраты ее части. Помимо деления зрелых гепатоцитов, характеризующихся у многих видов разной степенью плоидности [1,6,7,8,11,12], к числу клеточных механизмов регенерации этого органа у данного класса позвоночных животных относится также полиплоидизация гепатоцитов [3, 5, 6, 9,13, 10]. Что же касается вопроса о функционировании данного механизма в регенерирующей печени у рептилий, то в доступной нам литературе мы нашли лишь единичные сведения относительно плоидности гепатоцитов [1].

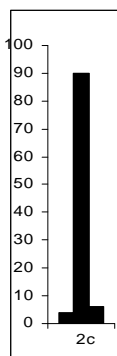
Учитывая недостаточную степень изученности вопросов о способе и источниках восстановительного роста печени у рептилий и имея целью выяснение роли различных клеточных механизмов в его осуществлении, мы поставили задачу изучить изменение содержания ядерной ДНК в гепатоцитах регенерирующей печени прыткой ящерицы *Lacerta agilis* в разные сроки после частичной гепатэктомии.

**Материал и методика.** Материалом для работы служила регенерирующая печень половозрелых ящериц вида *Lacerta agilis* (прыткая ящерица). Средняя масса тела ящериц составляла 20-25 г. Частичную гепатэктомию производили по разработанному нами методу. Животные за 10-20 мин до операции содержались в холодильнике при температуре +4°. В течение операции при помощи льда поддерживалась низкая температура тела подопытных животных. Через разрез брюшной стенки извлекали печень и после наложения лигатуры резецировали ее дистальную часть. Подопытные ящерицы были разделены на 4 группы, по 4 голов в каждой. Группы различались по продолжительности наблюдений после операции (3, 5, 14 и 30 сут). В качестве контроля использовали удаленную при операции часть печени. Забой животных производили под общим наркозом. Из образцов печени ящериц готовили отпечатки, которые фиксировали в 96 %-ном этиловом спирте в течение 30 мин.

На отпечатках, окрашенных фуксином по Фельгену (гидролиз 5 Н НС1, 60 мин, 22°), цитоспектрофотометрическим методом определяли количество ДНК при длине волны 575 нм. Содержание ДНК в ядрах определяли телевизионным методом с помощью модифицированного микроскопа — фотометра SMP-05 (фирма Opton, ФРГ), оснащенного компьютером и видеокамерой. В каждом случае измеряли по 100 клеток. По полученным данным (в усл. ед.) строили диаграммы распределения ядер по содержанию в них ДНК. Для построения диаграмм в качестве диплоидного эквивалента определяли среднее содержание ДНК в ядрах эритроцитов. Цитофотометрия эритроцитов показала, что варибельность содержания ДНК в их ядрах не превышала 10 % (рис. 1).

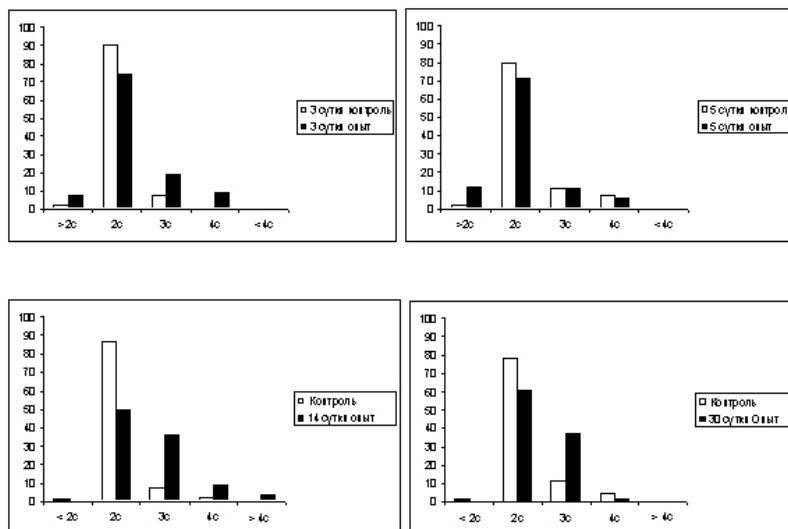
**Результаты и обсуждение.** На рис. 2 приводятся диаграммы, отражающие распределение ядер гепатоцитов печени прыткой ящерицы по содержанию ДНК (в единицах плоидности, %) в норме и в разные сроки после частичной гепатэктомии.

Цитофотометрическое изучение содержания ДНК показало, что в интактной печени *Lacerta agilis* подавляющее большинство ядер гепатоцитов диплоидны. В норме в печени прыткой ящерицы присутствуют также гепатоциты с содержанием ДНК 3 с (9 %), т.е. ядра с содержанием ДНК в 1.5 раза больше диплоидного эквивалента. Небольшой процент составляют и тетра-плоидные ядра (в среднем - 4).



**Рис.1.** Распределение ядер эритроцитов по содержанию ДНК у прыткой ящерицы.

По оси абсцисс – количество ДНК  
По оси ординат – процентное содержание клеток



**Рис. 2.** Распределение ядер гепатоцитов по содержанию ДНК в печени прыткой ящерицы в норме и через 3, 5, 14, 30 сут после частичной гепатэктомии.

По оси абсцисс – количество ДНК  
По оси ординат – процентное содержание клеток

Через 3 сут после частичной гепатэктомии в составе изученной выборки гепатоцитов увеличивалось количество клеток с тетраплоидными ядрами и ядрами с содержанием ДНК 3с. Появился новый класс ядер с содержанием ДНК больше 4с.

Последний может быть охарактеризован как класс гипертетраплоидных ядер. Соответственно в этот срок опыта в печени уменьшилось относительное количество гепатоцитов с диплоидными ядрами.

В следующий срок наших наблюдений - через 5 сут после частичной гепатэктомии, диаграмма, отражающая распределение ядер по содержанию ДНК, указывает на некоторое уменьшение количества диплоидных и тетраплоидных ядер и увеличение количества ядер с содержанием ДНК меньше диплоидного эквивалента. Мы предполагаем, что данное явление отражает вызванный оперативным вмешательством и, по-видимому, усиливающийся в этот срок опыта процесс гибели некоторой части гепатоцитов.

Через 14 сут после частичной гепатэктомии резко уменьшалось количество ядер с содержанием ДНК 2с и почти исчезли клетки с содержанием ДНК < 2с. По сравнению с нормой и с предыдущим сроком опыта было заметно увеличение количества ядер с содержанием ДНК 3с. В этот срок опыта нами было зарегистрировано также увеличение относительного количества тетраплоидных ядер. Более того, в числе изученных появились также гипертетраплоидные ядра. Эти данные свидетельствуют об активации в клетках синтеза ДНК. Что касается ядер с содержанием ДНК < 2с, то этот класс в этот срок опыта не был представлен.

К концу первого месяца наших наблюдений в регенерирующей печени прыткой ящерицы распределение ядер по содержанию ДНК от нормы отличалось большим количеством ядер с содержанием 3с. Количество тетраплоидных ядер было весьма незначительное. Количество ядер с содержанием ДНК 2с, по сравнению с предыдущим сроком, несколько увеличивалось за счет уменьшения числа тетраплоидных и полного отсутствия ядер с содержанием ДНК больше 4 с.

Полученные данные указывают на увеличение содержания ДНК в гепатоцитах в течение первого месяца регенерации печени прыткой ящерицы и свидетельствует об общей активации пролиферативных процессов в регенерирующем органе. Учитывая особенности динамики и характер изменений содержания ДНК в ядрах гепатоцитов, можно заключить, что полиплоидизация ядер гепатоцитов не играет существенной роли в осуществлении восстановительного роста печени у ящериц.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бродский В.Я., Урываева И.В. Клеточная полиплоидия, пролиферация и дифференцировка. М., Наука, 1981.
2. Галактионов В.Г. Иммунология. Москва, Академия, 2000.
3. Кудрявцев Б.Н., Кудрявцева М.В., Сакута Г.А., Скорина А.Д., Штейн Г.И. Цитология, 35, 70-83, 1993.
4. Сакута Г.А., Кудрявцев Б.Н. Цитология, 38, 70-83, 1996.
5. Сакута Г.А., Кудрявцев Б.Н. Цитология, 47, 379-387, 2005.
6. Урываева И.В. Известия РАН, Серия биологическая, 6, 728-737, 2001.
7. Alison M. Curr. Opin. Cell Biol., 10, 710-715, 1998.
8. Gandillet A., Alexandre E., Royer C., Cinqualbre J., Jaeck D., Richert L. Eur Surg Res., 35, 3, 148-160, 2003.
9. Alison M.R., Poulson R., Jeffrey R et al. Nature, 406, 257, 2000.
10. Melchiorri C., Chieco P., Zedda Al., Coni P., Ledda-Columbano GM., Columbano A. Carcinogenesis, 14, (9), 1825-1830, 1993.
11. Mozhukhina T.G., Azarskova M.V., Litoshenko Ala. Tsitol Genet. 32, 2, 49-56, 1998.
12. Seglen P.O. Cell Biol Toxicol. 13 4-5, 301-315, 1997.
13. Tamura J., Tanaka J., Fujita K., Yoshida M., Kasamatsu T., Arii S., Tobe T. J. Surg Res. 53, 3, 218-226, 1992.

Поступила 15.07.2009