

УДК 616.36-002:616.155.392:599.323.4

© Н.А. Рикало, С.Г. Полінкевич, 2012.

ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИННОГО ЦИКЛУ ТА ФРАГМЕНТАЦІЇ ДНК У ЩУРІВ РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУП НА ТЛІ ХРОНІЧНОГО ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ

Н.А. Рикало, С.Г. Полінкевич

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова, кафедра патофізіології (зав. – д.мед.н., доц. Н.А. Рикало), м. Вінниця.

FEATURES OF THE CELL CYCLE AND DNA FRAGMENTATION IN RATS OF DIFFERENT AGE GROUPS AGAINST THE BACKGROUND OF CHRONIC TOXIC HEPATITIS

N.A. Rykalo, S.G. Polinkevych

SUMMARY

Level of fragmentation of nuclear DNA in hepatocytes of rats of different age groups against the background of chronic toxic hepatitis was defined by the method of flow cytometry. Were found that the most sensitive to the damaging factors are hepatocytes of the immature rats.

ОСОБЕННОСТИ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА И ФРАГМЕНТАЦИИ ДНК У КРЫС РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА

Н.А. Рикало, С.Г. Полінкевич

РЕЗЮМЕ

С помощью метода проточной цитометрии определен уровень фрагментации ядерной ДНК гепатоцитов у крыс разных возрастных групп на фоне хронического токсического гепатита. Установлено, что наиболее чувствительными к повреждающего фактора были гепатоциты молодых неполовозрелых крыс.

Ключові слова: апоптоз, токсичний гепатит, вікові особливості.

Фундаментальні дослідження клітинної загибелі стають невід'ємною частиною експериментальних робіт, які присвячені вивченню різноманітних захворювань печінки. На сьогоднішній день доведена можливість хронізації процесу з розростанням фіброзної тканини в паренхіматозних органах, причому без попереднього розвитку запального процесу, а шляхом апоптозу. Встановлено, що у переважній більшості випадків хронічного ураження печінки основним механізмом загибелі клітин є апоптоз [3, 4]. На молекулярному рівні процес апоптичної загибелі представляє собою складний каскад реакцій, які пов'язані з експресією генів та білків, участю протеїнази, протеїназ та ендонуклеаз. [1, 2, 7]. Відомо, що активація процесів апоптозу гепатоцитів передбачає розгалужений ланцюг біохімічних реакцій, кінцевою стадією яких є фрагментація ДНК [5, 6, 8]. Метою дослідження було встановити особливості клітинного циклу та фрагментації ДНК у щурів різних вікових груп на тлі хронічного токсичного гепатиту (ХТГ).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження виконано на 96 щурах. Основну групу дослідження склало 48 щурів, які були поділені на наступні групи: група молодих статевонезрілих щурів – 16 тварин, віком 2 міс. (група ХТГ №1), група молодих статевозрілих щурів – 16 тварин, віком 6 міс. (група ХТГ №2), група старих щурів – 16 щурів, віком 18-20 міс (група ХТГ №3). Контроль – 48 інтактних

щурів, які також були поділені на три групи, аналогічних за віком. Експериментальну модель ХТГ на щурах основної групи було відтворено за допомогою інтрагастрального введення 20% олійного розчину CCl_4 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]. Цитофлуометричний аналіз проводився на багатофункціональному науково-дослідному проточному цитометрі «Partec PAS» фірми «Partec», Німеччина в НДЦ ВНМУ ім М.І. Пирогова.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При проведенні оцінки показників фрагментації ДНК серед щурів з ХТГ нами відмічено наступні особливості: в групі ХТГ №1 спостерігається, що даний показник в 1,76 рази більше у порівнянні з аналогічним показником в групі інтактних тварин відповідного віку ($6,56 \pm 1,51$ % проти $3,71 \pm 1,14$ %, $p < 0,03$) (Рис. 1). Проаналізувавши даний показник в групі ХТГ №2 відмічається, що він менший в 1,4 раза у порівнянні з групою контролю такого ж віку ($2,206 \pm 0,42$ % проти $3,098 \pm 0,71$ %, $p < 0,03$). В групі ХТГ №3 показник фрагментації ДНК був у 1,6 раза більше у порівнянні з інтактними тваринами аналогічного віку ($3,23 \pm 0,92$ % проти $1,98 \pm 0,6$ %, $p < 0,02$).

Оцінивши показники фрагментації ДНК у залежності від віку нами відмічено, що серед щурів контрольної групи він був найменший у старих

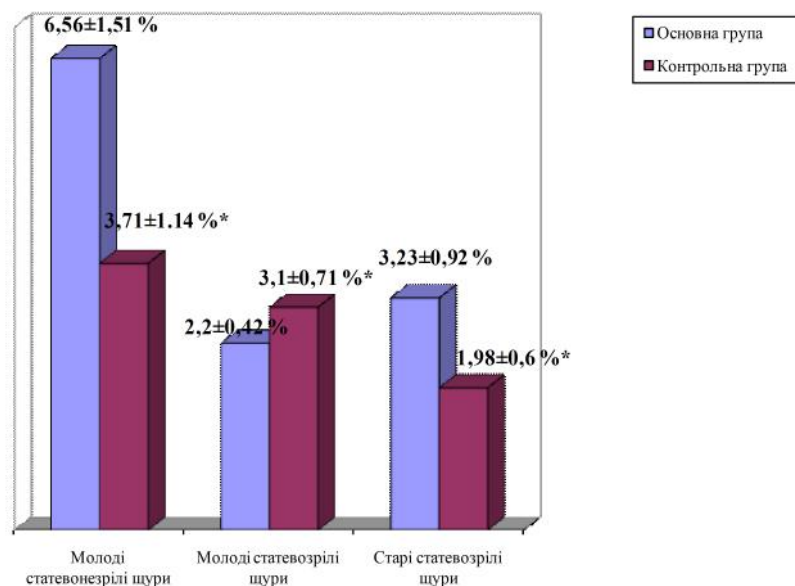


Рис. 1. Показники фрагментації ядерної ДНК гепатоцитів у щурів контрольної та основної групи в залежності від віку (%).

Примітка: * $p < 0,05$ – вірогідність різниці показників між основною та контрольною групою.

статевозрілих (1,98±0,6%), у порівнянні з групами молодих статевонезрілих (3,71±1,14%, $p=0,016$) та молодих статевозрілих щурів (3,098±0,71%, $p=0,028$) (рис. 2). Такий розподіл показників фрагментації ДНК ядер клітин печінки у різних вікових групах інтактних

тварин, на нашу думку, свідчить, що з віком відсоток клітин, які гинуть шляхом апоптозу знижується, та зростає відсоток клітин, які гинуть за рахунок розвитку некрозу.

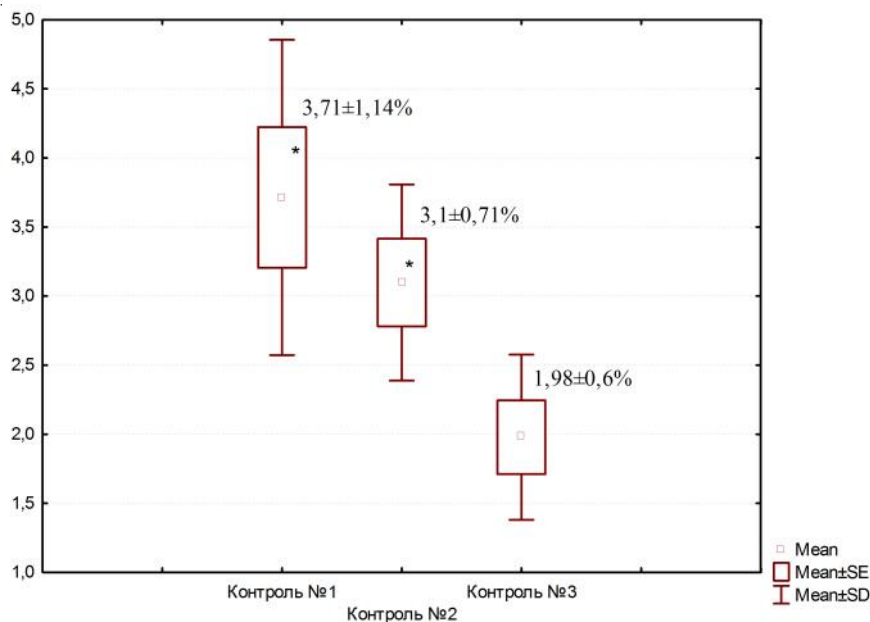


Рис. 2. Розподіл показників фрагментації ядерної ДНК гепатоцитів у щурів з групи контролю в залежності від віку (%).

Примітки: * $p < 0,05$ – вірогідність різниці показників між групою контроль №3 та групами контроль №1 та №2.

Проведений нами аналіз вікових особливостей показників фрагментації ДНК серед щурів з ХГТ показав, що достовірно вищий рівень фрагментації

ДНК відмічається у щурів групи ХГТ №1 (6,56±1,51%) у порівнянні з іншими групами, а саме у 2,95 раза у порівнянні з групою молодих статевозрілих щурів

($2,206 \pm 0,42\%$, $p < 0,001$) та у 2 рази у порівнянні з групою старих статевозрілих щурів ($3,23 \pm 0,92\%$, $p < 0,001$) (рис. 3). При порівнянні груп ХТГ №2 та ХТГ №3 між собою

також було виявлено статистично достовірну різницю в рівні фрагментації ядерної ДНК гепатоцитів ($p < 0,028$).

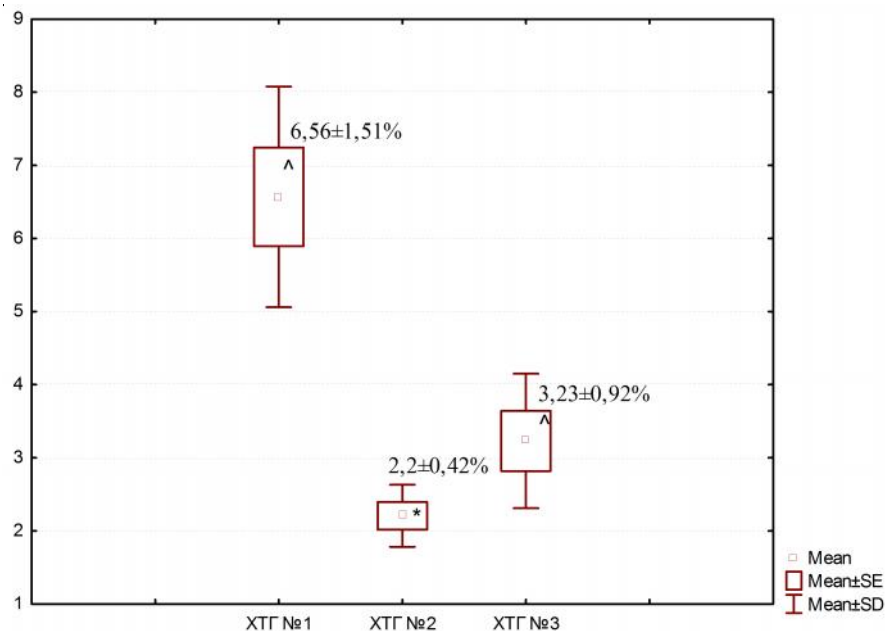


Рис. 3. Розподіл показників фрагментації ядерної ДНК гепатоцитів у щурів з хронічним токсичним гепатитом в залежності від віку (%).

Примітки: ^ $p < 0,001$ – вірогідність різниці показників між групою ХТГ №1 та групами ХТГ №2 та №3, * $p < 0,03$ – вірогідність різниці показників між групами ХТГ №2 та №3.

ВИСНОВКИ

Таким чином, згідно до отриманих нами даними можна зробити висновок, що найбільш чутливими до дії пошкоджуючого фактора були гепатоцити тварин з групи ХТГ №1, адже рівень фрагментації ядерної ДНК клітин печінки молодих статево незрілих щурів найвищий ($6,56 \pm 1,51\%$) у порівнянні з групами ХТГ №2 та №3 ($2,206 \pm 0,42\%$ та $3,23 \pm 0,92\%$, $p < 0,001$ відповідно), що вказує на переважання загибелі клітин шляхом апоптозу. Такий розподіл показників фрагментації ДНК ядер клітин печінки у різних вікових групах інтактних тварин, на нашу думку, свідчить, що з віком відсоток клітин, які гинуть шляхом апоптозу знижується, та зростає відсоток клітин, які гинуть за рахунок розвитку некрозу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Залесский В.Н. Механизмы апоптоза при заболеваниях печени (обзор) [Текст] / В.Н. Залесский, Н.В. Великая // Современные проблемы токсикологии. - 2002. - №4. - С. 27-32
2. Залесский В.Н. Молекулярная диагностика: лазерная сканирующая и проточная цитометрия в исследовании апоптоза / В. Н. Залесский //

Український медичний часопис. - 2010. - №4. - С. 27-31

3. Лук'янова О.М. Роль клітинної смерті у прогресуванні хронічних вірусних гепатитів у дітей / О. М. Лук'янова, Т. Д. Задорожна, В. С. Березенко // Журнал Академії Медичних Наук України. - 2009. - Том 15 N 4. - С. 670-683

4. Рикало Н.А. Фрагментація ядерної днк гепатоцитів при хронічному токсичному гепатиті у статево незрілих щурів: патогенетична корекція / Рикало Н.А. // Теоретична і експериментальна медицина. - 2010. - №4. - С. 15-18

5. Elmore S. Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death / Elmore S. // Toxicol Pathol. - 2007. - № 35(4). - p. - 495-516.

6. Guicciardi E. Apoptosis as a Mechanism for Liver Disease Progression / Guicciardi E., Gores G. J. // Semin Liver Dis. - 2010. - №30(4). - p. 402-410.

7. Guicciardi M.E. Apoptosis: a mechanism of acute and chronic liver injury / Guicciardi M.E., Gores G.J. // Gut. - 2005. - №54: - p. 1024-1033.

8. Malhi H. Cellular and Molecular Mechanisms of Liver Injury / Malhi H., Gores G.J. // Gastroenterology. - 2008. - №134(6). p- 1641-1654.