

Rikalo N. A., Beregovento Y. M. Дослідження фаз клітинного циклу та плоідності ядерної ДНК клітин печінки статево незрілих щурів при хронічному токсичному гепатиті та корекції лізиноприлом = Research of cell cycle phases and nuclear DNA ploidy in immature liver cells of rats with chronic toxic hepatitis and lisinopril correction. Journal of Education, Health and Sport. 2016;6(1):219-228. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.45343>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/3354>
<https://pbn.nauka.gov.pl/works/710097>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 755 (23.12.2015).
755 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Author (s) 2016;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, 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/4.0/>) 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/4.0/>) 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: 15.12.2015. Revised 12.01.2016. Accepted: 25.01.2016.

ДОСЛІДЖЕННЯ ФАЗ КЛІТИННОГО ЦИКЛУ ТА ПЛОІДНОСТІ ЯДЕРНОЇ ДНК КЛІТИН ПЕЧІНКИ СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ТОКСИЧНОМУ ГЕПАТИТІ ТА КОРЕКЦІЇ ЛІЗИНОПРИЛОМ

RESEARCH OF CELL CYCLE PHASES AND NUCLEAR DNA PLOIDY IN IMMATURE LIVER CELLS OF RATS WITH CHRONIC TOXIC HEPATITIS AND LISINOPRIL CORRECTION

Н. А. Рикало, Ю. М. Берегоvento
N. A. Rikalo, Y. M. Beregovento

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова
Vinnitsa National Pirogov memorial Medical University

Summary

The results of experimental studies on the impact angiotensin inhibitor converting enzyme - lisinopril on the processes of reparative regeneration of liver tissue of rats with chronic toxic hepatitis were present. The aim: to investigate the effect of lisinopril on phases of the cell cycle ploidy and nuclear DNA of liver cells of rats model of chronic toxic hepatitis (CTH) in rats.

Experimental studies conducted on 34 white laboratory immature rats with an initial body weight 50-70 gr. CTH was modelling by intragastric administration of 0,1 ml/100 g weight CCl₄ oil solution twice a week in combination with a 5% solution of ethanol for six weeks. Lisinopril (at a dose of 20 mg/kg) was introduced into the stomach simultaneously with hepatotoxins daily for six weeks.

Conclusion. Administration of lisinopril with hepatotoxins promotes the process of reparative regeneration of liver tissue due to the hyperplasia of hepatocytes, as indicated by the increase of the percentage of hepatocytes with diploid set of DNA reduction of polyploid nuclei amount and restoration of the proportion of nuclei in the range of G₀-G₁.

Key words: chronic toxic hepatitis, rats, reparative regeneration, mechanism, cell cycle, DNA ploidy nuclear.

Резюме

У статті наведені результати експериментальних досліджень по вивченню впливу інгібітора ангіотезин-перетворюючого ферменту лізиноприлу на процеси репаративної регенерації тканини печінки щурів із хронічним токсичним гепатитом. Мета роботи: дослідити вплив лізиноприлу на фази клітинного циклу та плоідність

ядерної ДНК клітин печінки щурів на моделі хронічного токсичного гепатиту (ХТГ) у щурів.

Експериментальні дослідження проведені на 34 білих лабораторних статевонезрілих, з початковою масою тіла 50-70г. ХТГ, змодельованим інтрагастральним введенням олійного розчину CCl_4 в дозі 0,1 мл/100 г маси двічі на тиждень у комбінації з 5% розчином етанолу в якості пиття впродовж шести тижнів. Паралельно із гепатотоксинами щодня протягом шести тижнів інтрагастрально вводили лізиноприл (в дозі 20мг/кг).

Висновок. Лікувально-профілактичне введення лізиноприлу одночасно із гепатотоксинами сприяє процесам репаративної регенерації тканини печінки за механізмом гіперплазії, на що вказує збільшення відсотку гепатоцитів із диплоїдним набором ДНК, зменшення відсотку поліплоїдних ядер та відновлення частки ядер у інтервалі G_0-G_1 .

Ключові слова: хронічний токсичний гепатит, щурі, репаративна регенерація, мезанізми, клітинний цикл, плоїдність ядерної ДНК.

Актуальність. Хронічні дифузні хвороби печінки залишаються актуальною проблемою сучасної медицини через високий рівень захворюваності та розвиток небезпечних для життя ускладнень.

Фіброз печінки (ФП) на сучасному рівні можна розглядати як один із етапів розвитку хронічних хвороб печінки різної етіології, що характеризується збільшенням у ній вмісту колагену та інших матриксних білків, що призводить до порушення архітекτονіки та функцій печінки. Фіброз печінки розглядається як репаративний процес у відповідь на ушкодження, що може перебігати двонаправлено і є потенційно зворотнім [1].

Фактори фіброгенетичного росту, такі як трансформуючий фактор росту (TGF- β 1), фактор росту фібробластів (FGF), вазоактивні субстанції (ангіотензин II, норадреналін) і адипокіни (лептин, адипонектин), кожен сам по собі необхідний для розвитку фіброзу в цілому. Усунення або зворотній розвиток колагену після припинення пошкоджуючої дії на печінку регулюється тканинними інгібіторами металопротеаз та TGF β 1 [2-4].

Є маловивчені на теперішній час фактори, які визначають прогресію неалкогольного стеатогепатиту і поліморфізм медіаторів фіброгенеза (ангіотензин і TGF β 1), що може бути асоційовано з більш важким перебігом захворювання. Таким чином, стає очевидним, що стадії регенерації і фіброгенезу в печінці включають: запалення, формування тимчасового тромбу з подальшою інвазією і проліферацією

запальних і матрикспродукуючих клітин і, накінець, кінцеве відновлення чи формування рубця (септи) [5,6].

При повторному (хронічному) пошкодженні відкладання матриксу переважає над його ресорбцією, що викликано дисбалансом між фіброгенезом і фібринолізом та призводить до формування рубця. При цьому важливу роль може відігравати недостатня чи повільна регенерація, яка сприяє збільшенню вільного простору для відкладання матриксу. По мірі прогресування рубцювання від мостовидного фіброзу до сформованих вузлів відбувається повне порушення архітектоніки і перехід в цироз печінки.

В експериментальних моделях показана здатність цілого ряду лікарських речовин зменшувати ступінь ФП, але поки що жоден препарат не схвалений для клінічного застосування. Можливо, це обумовлено необхідністю проведення серйозних біопсій печінки, довготривалим наглядом і меншою чутливістю печінки людини до антифібротичної терапії порівняно з печінкою лабораторних тварин [1].

Найбільш перспективним у лікуванні ФП є пригнічення активності ренін-ангіотензинової системи (РАС), яка відіграє не останню роль у розвитку ФП. Ангіотензин II (АТ) – основний ефектор РАС у регуляції тиску крові та гомеостазу рідини у організмі. Його дія опосередкована через два типи рецепторів, які експресовані на багатьох тканинах та органах. АТ II здатний активувати проліферацію деяких типів клітин, посилювати синтез колагену. При хронічному ураженні печінки активовані міофібробласти синтезують АТ II. Експресія TGF β 1 - ключового цитокіна в розвитку ФП, підвищується під дією АТ II. Експериментальними дослідженнями показано, що блокатори рецепторів АТ II першого типу і інгібітори ангіотензин перетворюючого ферменту (АПФ) затримують процес фіброзування в печінці [7]. Проте механізми антифібротичної дії інгібіторів АПФ на сьогоднішній день не з'ясовано, що і визначає актуальність проведення таких досліджень.

Мета роботи: дослідити вплив лізіноприлу на фази клітинного циклу та плоідність ядерної ДНК клітин печінки щурів на моделі хронічного токсичного гепатиту (ХТГ) у щурів.

Матеріал і методи. Експериментальні дослідження проведені на 34 білих лабораторних статевонезрілих, з початковою масою тіла 50-70г. 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) на наказу МОЗ України №281 від 01.11.2000 р. «Про заходи щодо подальшого вдосконалення організаційних норм роботи з використанням експериментальних тварин». При виконанні експериментальних досліджень дотримувалися рекомендацій О. В. Стефанова (2001) [8].

Тварини перед початком експерименту всі були розподілені на 3 піддослідних груп по 8 тварин у кожній. Перша група - інтактні щури (контроль), друга – із ХТГ, змодельованим інтрагастральним введенням олійного розчину CCl_4 в дозі 0,1 мл/100 г маси двічі на тиждень у комбінації з 5% розчином етанолу в якості пиття впродовж шести тижнів [9]. Тваринам 3-ї групи паралельно із гепатотоксинами щодня протягом шести тижнів у лікувально-профілактичному режимі (О.В. Стефанов, 2001) інтрагастрально вводили лізіноприл (в дозі 20мг/кг, «Астрафарм», Україна).

Тварин виводили з експерименту шляхом одномоментної декапітації під барбаміловим наркозом. Печінку негайно вилучали. У стерильних умовах зі свіжого матеріалу вирізали шматочок тканини печінки, який негайно промивали стерильним 0,9% NaCl і поміщали у фосфатно-сольовий буфер рН 7,4 (Sigma) при температурі $+4/+8^{\circ}C$. Суспензії ядер з клітин печінки одержували за допомогою набору «CyStain DNA» фірми «Partec» (Німеччина) відповідно до протоколу-інструкції виробника. Із кожного зразка нуклеарної суспензії аналізувалося не менше 20 тисяч подій. Цитофлуориметричний аналіз проводився на багатофункціональному науково-дослідному проточному цитометрі «Partec PAS» фірми Partec (Німеччина) у НДЦ ВНМУ ім. М.І. Пирогова.

Вміст ДНК в ядрах клітин печінки, ізольованих з тканини печінки щурів досліджувався МПЦ. Суспензії ядер з клітин печінки одержували за допомогою спеціального 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 діамідинофеніліндолом (ДАПІ), який використовується для визначення вмісту ядерної ДНК, 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. Враховуючи той факт, що регенерація різних ділянок печінки відбувається неоднаково [524], ми проводили забір зразків тканини печінки для проведення досліджень МПЦ з аналогічної ділянки в усіх піддослідних тварин (ліва велика частка). Печінку подрібнювали на шматочки розміром приблизно $1-2 \text{ мм}^3$ з наступною обробкою ДАПІ. Отриману нуклеарну суспензію тканини печінки

пропускали через одноразові фільтри CellTrics з діаметром 50 мкм. Для ініціації флуоресценції ДАПІ використовувалася ртутна УФ-лампа, реєстрація відбувалася в УФ-спектрі. Із кожного зразка нуклеарної суспензії аналізувалося не менше 20 тисяч подій.

Циклічний аналіз клітин виконувався засобами програмного забезпечення FloMax (фірма Partec, Німеччина) з повною цифровою відповідністю. Цифрова відповідність експериментальним даним виконана згідно математичної моделі. Цифровий результат показаний у вікні циклічного аналізу клітин за алгоритмом клітинного циклу разом з графічним представленням фаз G_1 , S і G_2/M і експериментальними даними.

Кількісні результати циклу клітини : G_1 % – відсоткове співвідношення клітин фази G_1 до всіх клітин клітинного циклу; S % – відсоткове співвідношення клітин фази S до всіх клітин клітинного циклу, який використовується як параметр для оцінки регенераційного статусу; G_2M % – відсоткове співвідношення клітин фази G_2M до всіх клітин клітинного циклу; CV % G_1 – відносний коефіцієнт варіації піку G_1 ; CV % G_2 – відносний коефіцієнт варіації піку G_2M ; MnG_2M – середнє значення каналу піку G_2M ; MnG_1 – середнє значення каналу піку G_1 . Також обчислювали індекс проліферації (PI), шляхом додавання S % та G_2M %. В цифровому методі відповідності математична модель (сума колоколоподібних розподілів Гауса) зіставляється з даними гістограми. В моделі, кожний пік представлений розподілом Гауса із заданим положенням, шириною і висотою. На ДНК-гістограмах аналізували відсотки ядер, що мають різний вміст ДНК, що відображалось піками диплоїдного, тетраплоїдного, октаплоїдного та більше наборів ДНК.

Результати та їх обговорення. При ушкодженні печінки гепатотоксинами частка ядер печінкових клітин в інтервалі G_0-G_1 була зменшена на 8,5 % у порівнянні з контролем ($p < 0,01$), що може бути наслідком альтерації високоспеціалізованих гепатоцитів, які є найбільш чутливими до дії гепатотоксинів, а також мобілізації резервів (G_0 фаза) для забезпечення регенерації. Паралельно зареєстровано, що частка ядер у S -фазі була на 72,2 % більшою ($p < 0,05$), в інтервалі G_2M - була більшою на 27,1 % у порівнянні з інтактними тваринами ($p < 0,05$). Достовірне зростання індексу проліферації на 31,3 % (PI – сума показників фаз S та G_2M) ($p < 0,01$) може вказувати про активацію процесів репаративної регенерації у печінці на ушкодження гепатотоксинами (табл. 1).

Таблиця 1.

Фази клітинного циклу ДНК в ядрах клітин печінки, $M \pm \sigma$

Група	Показники			
	G ₀ +G ₁ (%)	S (%)	G ₂ M (%)	PI (S+ G ₂ M) %
Контроль, n=10	77,43±2,39	2,30±0,69	20,38±2,61	22,68±2,47
ХТГ, n=12	70,89±3,42**	3,96±1,53*	25,91±2,83*	29,78±3,32**
ХТГ+лізинорил, n=12	83,06±2,90***##	2,35±0,349#	14,59±2,68***##	16,94±2,90***##

Примітка. (Тут і в наступній таблиці) * – достовірна відмінність у порівнянні з контрольною групою (* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$); # – достовірна відмінність у порівнянні з ХТГ (# – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$, ### – $p < 0,001$).

При одночасному введенні гепатотоксинів і лізиноприлу частка ядер печінкових клітин в інтервалі G₀-G₁ була більшою на 17,3 % у порівнянні з ХТГ ($p < 0,01$), частка ядер у S-фазі була на 40,7 % меншою ($p < 0,05$) та не відрізнялась від показника у контрольній групі, в інтервалі G₂M - була більшою на 43,7 % ($p < 0,01$). Достовірно менший PI на 43,1 % у порівнянні з тваринами, які отримували лише гепатотоксини ($p < 0,01$) у поєднанні з іншими показниками, може вказувати на відновлення фаз КЦ на тлі ведення лізиноприлу (див. табл. 1).

Проліферативні процеси у печінці при введенні тваринам лізиноприлу відбуваються за рахунок збільшення частки гепатоцитів з диплоїдним набором ДНК у ядрі, оскільки їх частка збільшувалась на 18 % у порівнянні з ХТГ та практично не відрізнялась від інтактних тварин. Одночасне введення лізиноприлу із гепатотоксинами запобігає розвитку поліплоїдизації, оскільки відсоток гепатоцитів з ДНК понад 8с наближається до такого у контролі, на відміну від тварин із ХТГ, у яких частка високо поліплоїдних ядер зростала удвічі. Тоді як відомо, що поліплоїдні ядра не здатні повною мірою виконувати фізіологічну функцію.

Аналізуючи плоїдність ядер клітин печінки в експерименті за допомогою МПЦ доведено, що склад популяції клітин, виділених із нормальної і патологічно зміненої печінки, суттєво відрізняється за кількістю наборів ДНК. Так, у тварин із ХТГ відсоток ядер із набором хромосом 2с є меншим на 12,3 % у порівнянні з інтактними тваринами (Табл. 2). Це свідчить про ушкодження значної кількості 2с-гепатоцитів, оскільки вони є більш чутливими до дії патогенних чинників [10].

Таблиця 2

Показники плоїдності ядерної ДНК клітин печінки, $M \pm \sigma$

Група	Плоїдність				
	2с %	4с %	8с %	> 8с %	2с/4с
Контроль, n=10	77,31±4,97	18,01±4,87	3,19±1,23	2,57±1,27	4,29

ХТГ, n=12	67,79±3,62*	21,87±2,54	3,72±0,78	5,01±1,43**	3,10
ХТГ+лізіноприл, n=12	79,97±4,61 [#]	13,84±2,38 [#]	3,18±0,93	3,01±1,47	5,78

Відсоток ядер із 2с набором ДНК у статевонезрілих щурів, яким вводили гепатотоксини, був меншим за рахунок збільшення відсотку 4с, 8с, та > 8с ядер (у 2 рази, $p < 0,01$ у порівнянні з аналогічним показником у інтакті).

Раніше нами встановлено, що зміна співвідношення між відсотком 2с та 4с ядер свідчить про зменшення регенерації ушкодженого органу, а саме процесів проліферації, за умов впливу гепатотоксинів на печінку статевонезрілих щурів, адже відомо, чим вища спеціалізація клітин, тим менша їх здатність до проліферації. Ми вважаємо, що це стосується і печінки, незважаючи на її надзвичайно високу потенцію до регенерації. Також подібна динаміка вказаного співвідношення можлива і за рахунок переважної загибелі 2с-гепатоцитів, спричиненої впливом CCl_4 та етанолу [10].

Поліплоїдія при ХТГ у статевонезрілих тварин є захисним механізмом проти руйнування клітин, спрямованим на виживання органу й організму в цілому, а також для підтримання спеціалізованої функції. На нашу думку, менший відсоток диплоїдних та більший – поліплоїдних ядер печінкових клітин при дії CCl_4 та етанолу можна пояснити тим, що 2с-клітини є більш чутливими до дії патогенного чинника, тоді як клітини з поліплоїдним ядром є більш стійкими. Також поліплоїдію можна пояснити активацією ПОЛ, продукти якого є своєрідним стимулятором, що можуть індукувати збільшення наборів ДНК. Поліплоїдизація ядер гепатоцитів статевонезрілих тварин у випадку дії ушкоджуючих чинників може бути своєрідним захисним механізмом проти руйнування клітин, спрямованим на відновлення спеціалізованої функції. Цей механізм не є достатньо ефективним і не може забезпечити повну регенерацію ушкодженої печінки. Менше значення у нелікованих тварин, на нашу думку, має проліферація спеціалізованих диплоїдних печінкових клітин. Також нами встановлено, що збільшення плоідності ДНК клітин печінки не веде до збільшення їх реплікативної здатності, а, навпаки, її знижує, але передбачає такий компенсаторно-приспосувальний процес, як регенераційна гіпертрофія – збільшення об'єму клітин, що може сприяти відновленню і маси, і функції органу [10, 11].

При лікувально-профілактичному введенні лізіноприлу паралельно із гепатотоксинами виявлено, що відсоток 2с ядер був більшим на 18 % у порівнянні з ХТГ ($p < 0,05$), до практично не відрізняється від такого у інтактних тварин (див. табл. 2). Більший відсоток гепатоцитів з диплоїдними набором ДНК на тлі медикаментозної

корекції, на нашу думку, є позитивним ефектом, оскільки репаративна регенерація печінки відбувається головним чином за рахунок проліферації і сприяє відновленню спеціалізованої функції [10].

У нелікованих тварин із ХТГ відсоток 2с-гепатоцитів був меншим, що відзеркалюється на співвідношенні 2с/4с, яке знижується на 28% у порівнянні з інтактом (табл. 2). Цьому сприяє більший відсоток поліплоїдних ядер печінкових клітин у нелікованих тварин з набором ДНК понад 8с у 2 рази, що є нетиповим для статевонезрілих щурів. Зменшення співвідношення між кількістю диплоїдних та тетраплоїдних ядер свідчить про пригнічення регенерації ушкодженого органу за умов тривалого впливу гепатотоксинів на печінку статевонезрілих щурів. З одного боку, це може розглядатися як ознака передчасного старіння, виразного ушкодження та значної загибелі гепатоцитів, а з іншого – підвищення відсотку поліплоїдії є своєрідним захисним механізмом на дію тетрахлорметану та етанолу [10, 12].

Лізиноприл достовірно, порівняно з тваринами із ХТГ без медикаментозної корекції, збільшує відсоток диплоїдних ядер та наближує їх кількість до аналогічного показника у контролі, що, на нашу думку, є ознакою хорошої регенерації тканини печінки. Співвідношення 2с/4с при введенні тваринам лізиноприлу дорівнювало 5,78, що у 1, 86 рази перевищує показник у тварин з ХТГ, та, на нашу думку, може вказувати на активацію процесів проліферації гепатоцитів із 2с набором ДНК при введенні даного препарату. Як відомо, саме клітини із диплоїдним набором ДНК активніше вступають у клітинний цикл, що призводить до відновлення як маси, так і функції органу [10-12], то даний ефект у лізиноприлу може сприяти процесам репаративної регенерації тканини печінки за механізмом гіперплазії та відновлювати функції органу.

Висновок. Лікувально-профілактичне введення лізиноприлу одночасно із гепатотоксинами сприяє процесам репаративної регенерації тканини печінки за механізмом гіперплазії, на що вказує збільшення відсотку гепатоцитів із диплоїдним набором ДНК, зменшення відсотку поліплоїдних ядер та відновлення частки ядер у інтервалі G_0 - G_1 .

Перспективи подальших досліджень. Пошуки препаратів із антифібротичною дією, які активують процеси регенерації ушкодженої печінки різними етіологічними чинниками, дозволить запобігти прогресуванню печінкової недостатності та покращити прогноз.

Список літератури:

1. Бабак О.Я. Фиброз печени: современные представления о механизмах, способах диагностики и лечения / О.Я. Бабак, Е.В. Колесникова, Н.А. Кравченко // Сучасна гастроентерологія. - №2. - 2009. - С.5-17.
2. Adachi T., Togashi H., Suzuki A. et al. NAD (P) H oxidase plays a crucial role in PDGF-induced proliferation of hepatic stellate cells // Hepatology. — 2005. — Vol. 41. — P. 1272—1281.
3. Sugimoto H., Yang C., LeBleu V.S. et al. BMP—7 functions as a novel hormone to facilitate liver regeneration // FASEB J. — 2007. — Vol. 21. — P. 256—264.
4. Zhan S.S., Jiang J.X., Wu J. et al. Phagocytosis of apoptotic bodies by hepatic stellate cells induces NADPH oxidase and is associated with liver fibrosis in vivo // Hepatology. — 2006. — Vol. 43. — P. 435—443.
5. Hillebrandt S., Wasmuth H.E., Weiskirchen R. et al. Complement factor 5 is a quantitative trait gene that modifies liver fibrogenesis in mice and humans // Nat. Genet. — 2005. — Vol. 37. — P. 835—843.
6. Nieto N. Oxidative-stress and IL-6 mediate the fibrogenic effects of rodent Kupffer cells in stellate cells // Hepatology. — 2006. — Vol. 44. — P. 1487—14501
7. Rockey D.C. Antifibrotic therapy in chronic liver disease // Clin. Gastroenterol. Hepatol. — 2005. — Vol. 3. — P. 95—107.
8. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / О. В. Стефанов. - К. : МОЗ України, Державний фармакологічний центр, 2001. - 527 с.
9. Пат. 43704 України, МПК (2009) G09В 23/00. Спосіб моделювання хронічного токсичного гепатиту та цирозу печінки у нестатевозрілих щурів / Н. А. Рикало, І. І. Незгода, В. А. Рауцкіс ; власник Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. - № u2009 03490 ; заявл. 10.04.2009 ; опубл. 25.08.2009, Бюл. № 16.
10. Мороз В. М. Поліплоїдія гепатоцитів у статевонезрілих щурів при хронічному токсичному гепатиті, медикаментозна корекція / В. М. Мороз, Н. А. Рикало // Загальна патологія та патологічна фізіологія. - 2010. - № 1. - С. 61—72.
11. Анацкая О. В. Полиплоидия в сердце : защита и слабость / О. В. Анацкая, А. Е. Виноградов // Химия и жизнь. - 2008. - № 9. - С. 34—37.
12. Рикало Н. А. Особливості плоідності ядерної ДНК клітин печінки при хронічному токсичному гепатиті у щурів / Н. А. Рикало, С. Г. Полінкевич // Здобутки експериментальної та клінічної медицини. - 2012. - № 2. - С. 205.

References in transliteration

1. Babak O.Ja. Fibroz pecheni: sovremennye predstavlenija o mehanizmah, sposobah diagnostiki i lechenija / O.Ja. Babak, E.V. Kolesnikova, N.A. Kravchenko // Suchasna gastroenterologija. - #2. – 2009. – S.5-17.
2. Adachi T., Togashi H., Suzuki A. et al. NAD (P) H oxidase plays a crucial role in PDGF induced proliferation of hepatic stellate cells // Hepatology. — 2005. — Vol. 41. — P. 1272—1281.
3. Sugimoto H., Yang C., LeBleu V.S. et al. BMP—7 functions as a novel hormone to facilitate liver regeneration // FASEB J. — 2007. — Vol. 21. — P. 256—264.
4. Zhan S.S., Jiang J.X., Wu J. et al. Phagocytosis of apoptotic bodies by hepatic stellate cells induces NADPH oxidase and is associated with liver fibrosis in vivo // Hepatology. — 2006. — Vol. 43. — P. 435—443.
5. Hillebrandt S., Wasmuth H.E., Weiskirchen R. et al. Complement factor 5 is a quantitative trait gene that modifies liver fibrogenesis in mice and humans // Nat. Genet. — 2005. — Vol. 37. — P. 835—843.
6. Nieto N. Oxidative stress and IL 6 mediate the fibrogenic effects of rodent Kupffer cells in stellate cells // Hepatology. — 2006. — Vol. 44. — P. 1487—14501
7. Rockey D.C. Antifibrotic therapy in chronic liver disease // Clin. Gastroenterol. Hepatol. — 2005. — Vol. 3. — P. 95—107.
8. Stefanov O. V. Doklinichni doslidzhennja likars'kih zasobiv (metodichni rekomendacii) / O. V. Stefanov. – K. : MOZ Ukraïni, Derzhavnij farmakologichnij centr, 2001. – 527 s.
9. Pat. 43704 Ukraïni, MPK (2009) G09V 23/00. Sposib modeljuvannja hronichnogo toksichnogo gepatitu ta cirozu pechinki u nestatevozrilih shhuriv / N. A. Rikalo, I. I. Nezgoda, V. A. Rauckis ; vlasnik Vinnic'kij nacional'nij medichnij universitet im. M. I. Pirogova. – # u2009 03490 ; zajavl. 10.04.2009 ; opubl. 25.08.2009, Bjul. # 16.
10. Moroz V. M. Poliploidija gepatocitiv u statevonezrilih shhuriv pri hronichnomu toksichnomu gepatiti, medikamentozna korekcija / V. M. Moroz, N. A. Rikalo // Zagal'na patologija ta patologichna fiziologija. – 2010. – # 1. – S. 61–72.
11. Anackaja O. V. Poliploidija v serce : zashhita i slabost' / O. V. Anackaja, A. E. Vinogradov // Himija i zhizn'. – 2008. – # 9. – S. 34–37.
12. Rikalo N. A. Osoblivosti ploïdnosti jadernoï DNK klitin pechinki pri hronichnomu toksichnomu gepatiti u shhuriv / N. A. Rikalo, S. G. Polinkevich // Zdobutki eksperimental'noï ta klinichnoï medicini. – 2012. – # 2. – S. 205.