

УДК 576.3

## КЛЕТОЧНАЯ ПОЛИПЛОИДИЯ. МИОКАРД. ПЕЧЕНЬ. ОНТОГЕНЕЗ И РЕГЕНЕРАЦИЯ

© 2024 г. В. Я. Бродский<sup>1, \*</sup>, Б. Н. Кудрявцев<sup>2</sup>, Н. Н. Безбородкина<sup>3, \*\*</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН  
ул. Вавилова, 26, Москва, 119334 Россия

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет  
Университетский пр., 26, Санкт-Петербург, 198504 Россия

<sup>3</sup>Зоологический институт РАН  
Университетская наб., 1, Санкт-Петербург, 199034 Россия

\*E-mail: brodsky.idb@bk.ru

\*\*E-mail: Natalia.Bezborodkina@zin.ru

Поступила в реакцию 15.05.2023 г.

После доработки 15.10.2023 г.

Принята к печати 15.01.2024 г.

Клеточная (соматическая) полиплоидия – общебиологическое явление, свойственное как одноклеточным, так и многоклеточным животным и растениям. У млекопитающих полиплоидные клетки свойственны всем тканям; иногда они единичны, в некоторых случаях преобладают в органе. Механизм полиплоидизации – обычный, но незавершенный митоз. Причина незавершения митоза – конкуренция процессов пролиферации и дифференцировки, а на уровне генома – нарушения метаболизма циклин-зависимых киназ, некоторых других митотических киназ (AURORA), транскрипционных факторов Ect2, E2F, некоторых регуляторных белков (p53, ламинин, септин), а также компонентов сигнального пути Hippo. Время полиплоидизации ограничено ранним постнатальным онтогенезом и, как показали опыты с трансплантатами сердца, входит в программу развития. Типичный способ умножения генома – смена из цикла в цикл двуядерных и полиплоидных одноядерных клеток. Полиплоидизация клеток необратима и является нормальным механизмом роста органов, а для некоторых клеток – способом дифференцировки. На примере миокарда и печени показано, что состав и численность полиплоидных клеток зависят от условий жизни в раннем постнатальном периоде. После выхода из митотического цикла клетки продолжают расти; постмитотическая гипертрофия – один из основных способов роста миокарда в онтогенезе и единственный при его регенерации. Выявлен резерв роста миокарда при повреждении (инфаркт и др.), связанный с его плоидностью, заложенной в детстве. При повреждении печени млекопитающих в цикл входят все гепатоциты и происходят как деления, так и полиплоидизация клеток. Полиплоидия в онтогенезе вплоть до старения полноценно дополняет восстановление активности тканей и органов.

DOI: 10.31857/S0044459624010047, EDN: wgfksn

Изучение клеточной полиплоидии стало возможным с обнаружения соответствия между числом хромосом и содержанием ДНК в интерфазном ядре и разработкой метода цитофотометрии ДНК. В 1970–1980-е гг. обосновано общебиологическое распространение полиплоидных клеток и их особая значимость у млекопитающих. У них полиплоидные клетки обычны во всех зрелых тканях. В экспериментах определен механизм полиплоидизации, обоснованы ее причины. Данные экспериментальных работ обобщены в монографии, изданной в Кембридже (Brodsky, Uryvaeva, 1985). Исследования продолжались во многих лабораториях, и в 2020–2022 гг. опубликованы новые

обзоры (Donne et al., 2020; Kirillova et al., 2021; Bailey et al., 2021; Anatskaya, Vinogradov, 2022). Общая их черта – игнорирование работ, выполненных до 2000 г. В результате предлагаются маловероятные или даже неверные представления о механизме умножения генома, причинах полиплоидизации клеток в онтогенезе и ее значимости в онтогенезе и при регенерации.

Задача настоящей статьи – рассмотреть экспериментальные данные об основах клеточной полиплоидии. Также приведены новые значимые результаты молекулярной генетики, перспективные для понимания останки митоза при образовании двуядерных и одноядерных полиплоидных клеток.

Основные объекты исследования в давних и современных работах — гепатоциты печени и кардиомиоциты желудочков сердца млекопитающих. Обсуждаются современные данные об их развитии в онтогенезе и в процессе регенерации.

## КЛЕТОЧНАЯ ПОЛИПЛОИДИЯ В СЕРДЦЕ

### *Взрослые животные*

Данные относятся к миоцитам желудочков сердца. Изучение срезов миокарда выявило сходные размеры ядер и привело к выводу о диплоидности кардиомиоцитов. Уже в первых исследованиях изолированных клеток обнаружено множество двуядерных клеток, т.е. как минимум тетраплоидных по суммарному геному — до 80% у крысы (Коган и др., 1976). Затем цитофотометрия ДНК подтвердила тетраплоидию и выявила октаплоидные двуядерные, а также одноядерные полиплоидные кардиомиоциты. Число диплоидных и полиплоидных клеток сходно в левом и правом желудочках изученных видов млекопитающих и мало отличается в разных слоях миокарда мыши и человека (Brodsky, 1991). В предсердиях полиплоидия выражена слабее, чем в желудочках, но миоциты с умноженным геномом есть и здесь. У всех изученных млекопитающих в желудочках нашли более 50% двуядерных клеток, минимально тетраплоидных по суммарному геному (табл. 1). Обычны в миокарде и многоядерные клетки.

Исследование ploидности кардиомиоцитов миокарда у разных видов взрослых птиц показало полиплоидизацию со значительным преобладанием двуядерных клеток (Anatskaya et al., 2001). Немало многоядерных кардиомиоцитов с 3–8 диплоидными ядрами.

Отметим, что у тритона (Oberpriller et al., 1988) и рыб *Danio rerio* (Poss et al., 2002) миокард диплоидный. Такой миокард способен ответить на повреждение пролиферацией кардиомиоцитов и восстановлением структуры и функций сердца (Ellman et al., 2021). Ранее во многих работах было показано, что у тритона после повреждения глаза сетчатка полноценно восстанавливается из диплоидных клеток пигментного эпителия. В специальных исследованиях отмечены различия свойств пигментного эпителия у тритона и млекопитающих (Лопашов, Строева, 1963). Подобные исследования сердца рыб и тритона чрезвычайно перспективны. Уже показано, что полиплоидизация миокарда рыбы *D. rerio* ликвидирует способность к регенерации (Gonzalez-Rosa et al., 2018). В отличие от данио, миокард атлантического лосося содержит много двуядерных клеток (около 30%  $2c \times 2$  и 4%

$4c \times 2$ ;  $c$  — количество ДНК, соответствующее  $n$  — хромосомному набору —  $16n$ ,  $64n$  и т.д.), есть одноядерные  $4c$  и  $8c$  (Мартынова и др., 2002). Не известно, как у лосося происходит регенерация. Скорее всего, не только диплоидия — фактор регенерации. Но на этот материал стоит обратить внимание, как это делается при сравнении регенерации сетчатки тритона и мыши (Grigoryan, 2022).

### *Изменения пролиферации кардиомиоцитов в онтогенезе*

Все ткани новорожденных млекопитающих диплоидные. После рождения крысы или человека клетки делятся, умножая число клеток в органе. Через 3–4 дня в сердце и в печени многие полные митозы сменяются неполными, приводя к образованию двуядерных и одноядерных полиплоидных клеток (Brodsky et al., 1985b). Затем в 7–14 дни число митозов у крысы или мыши резко уменьшается, а к 20-му дню митозы в миокарде необратимо блокируются. При внимательном изучении десятков тысяч срезов миокарда взрослых мышей и крыс митозы не были найдены даже после значительных повреждений сердца (Румянцев, 1982). Не найдены и изменения в ploидности кардиомиоцитов.

Полиплоидизация миокарда перепела завершается в первые 40 дней после вылупления, ко времени полного завершения роста птицы (Anatskaya et al., 2001). Далее ploидность не изменяется. У взрослых птиц преобладают двуядерные миоциты, около половины всех клеток.

Митозы в миокарде блокируются у мыши или крысы к 20–21-му дню после рождения, у человека примерно к 10 годам. Изучение трансплантатов миокарда показало врожденную внутреннюю программу остановки пролиферации (делений и полиплоидизации кардиомиоцитов). В Мичиганском университете трансплантировали кусочки миокарда новорожденной крысы под капсулу почки взрослой крысы; в Москве фотометрировали ДНК и определяли кинетику двуядерных кардиомиоцитов (Brodsky et al., 1988). Клетки в трансплантате делились и полиплоидизировались в те же сроки, что в сердце *in situ*.

Давно предполагалось, что митозы в миокарде прекращаются по мере дифференцировки миофибрилл. Румянцев (Rumyantsev, 1977) отметил, что дезорганизация миофибрилл во время митозов нарушает развитие сердца в раннем онтогенезе. Остановка митозов становится условием дифференцировки клеток.

Кардиомиоциты, вышедшие из цикла, продолжают расти, интенсивно синтезируя белок. Крыса растет всю жизнь; к концу жизни, 2–3 годам, вес

**Таблица 1.** Клеточная полиплоидия в печени и миокарде левого желудочка сердца млекопитающих (Brodsky, Uryuаeva, 1985; Brodsky, 1991; Кудрявцев и др., 1997; Vinogradov et al., 2001; Derks, Bergmann, 2020): + 70–90%, ± 40–50%, – 5–10%, пустые ячейки – нет достоверных данных

	Печень	Миокард
Человек <i>Homo sapiens</i>	–	+
Шимпанзе <i>Pan troglodytes</i>	±	
Бонобо <i>Pongo pygmaeus</i>	–	
Горилла <i>Gorilla gorilla</i>	–	
Резус <i>Rhesus monkey</i>		+
Макака <i>Macaca mullata</i>	–	+
Лисица <i>Vulpes vulpes</i>	–	+
Песец <i>Alopex lagopus</i>	–	+
Норка <i>Mustella vison</i>	–	+
Енотовидная собака <i>Nycteretus procyonoides</i>	–	
Выдра <i>Lutra lutra</i>	–	
Гепард <i>Acinomyx jubatus</i>	+	
Собака <i>Canis familiaris</i>	–	+
Кошка <i>Felis catus</i>	–	+
Рысь <i>Felix lynx</i>	–	
Мышь <i>Mus musculus</i>	+	+
Крыса <i>Rattus rattus</i>	+	+
Полевка <i>Microtus fortis</i>	±	
Полевка <i>M. sahalensis sachalinensis</i>	±	
Полевка <i>M. subarvalis</i>	±	
Полевка <i>M. ochrogaster</i>	+	
Суслик <i>Spermophilus pygmaeus</i>	+	
Кролик <i>Oryctolagus cuniculus</i>	–	+
Морская свинка <i>Cavia porcellus</i>	–	+
Лошадь <i>Equus caballus</i>	–	+
Зебра <i>Equus zebra</i>	–	
Свинья <i>Sus scrofa</i>	–	+
Пекари <i>Tayassu tajacu</i>	–	
Корова <i>Bos taurus</i>	–	+
Лось <i>Alces alces</i>	–	
Коза <i>Capra hircus</i>	–	+
Овца <i>Ovis aries</i>	–	+
Олень северный <i>Rangifer tarandus</i>	–	
Косуля <i>Capreolus capreolus</i>	–	
Антилопа <i>Orix dammah</i>	–	
Жираф <i>Giraffa camelopardalis</i>	–	+
Еж <i>Erinaceus europeus</i>	–	
Ехидна <i>Tahyglossus aculeatus</i>	–	
Кенгуру <i>Macropus agilis</i>	+	+
Кенгуру <i>M. kanguru giganteus</i>	±	
Кенгуру <i>M. rufogriseus</i>	–	

ее тела достигает 500–600 г. Растет и миокард, но только за счет увеличения массы непролиферирующих клеток.

На рис. 1 приведена обобщенная схема роста миокарда мышцы до года ее жизни. В первые дни после рождения вес миокарда увеличивается примерно на треть за счет делений клеток, в это время диплоидных. Последующая полиплоидизация, укрупнение клеток приводят к увеличению массы миокарда более чем в 2 раза, а постмитотический рост цитоплазмы — еще в 4 раза. У человека вес сердца увеличивается наиболее интенсивно в первые годы жизни и в период полового созревания, до 18 лет. Митозы в кардиомиоцитах человека прекращаются в 9–12 лет (Takamasu et al., 1983). Поскольку в миокарде человека нашли размножение миоцитов и последующую полиплоидизацию, а затем и рост цитоплазмы, схема на рис. 1 может характеризовать и кинетику роста миокарда человека. Но конкретный вклад разных способов роста миокарда человека еще предстоит выяснить.

В исследовании патологоанатомического материала сердца человека (Brodsky et al., 1991) была найдена значительная вариабельность плоидности кардиомиоцитов в миокарде здоровых людей (Brodsky et al., 1993, 1994). Исследование миокарда крыс и мышей, взятых из вивария, показывало большое сходство индивидуальных значений плоидности, хотя некоторая вариабельность отмечена и у них. В разные дни трехнедельного периода после рождения крыс варьирует и митотический индекс кардиомиоцитов (Большакова, 1980).

Как показали наши экспериментальные исследования развития сердца мыши (Brodsky et al., 1985a), одной из причин вариабельности плоидности клеток могут быть различия в режиме питания после рождения. Обычно мыши или крысы выращивают 7–8 сосунков у одной кормилицы. Такую группу брали как контроль. Были еще две группы: в одной к кормилице подсаживали 16 сосунков, в другой — только 4. Ко дню отъема, переходу к самостоятельному питанию на 21-е сутки после рождения, обильно питающиеся мышата (4 у кормилицы) весили значительно больше, чем слабо питающиеся; их сердце весило вдвое больше. Так же отличалось и содержание белков в желудочковых миоцитах. Численность кардиомиоцитов у быстро растущих мышей ко дню отъема была на 20% больше, чем у медленно растущих. У последних было значительно больше диплоидных миоцитов и в 5–6 раз меньше октаплоидных. У быстро растущих были и гексадекаплоидные клетки (около 20%), которых не было у медленно растущих. В итоге суммарный геном быстро

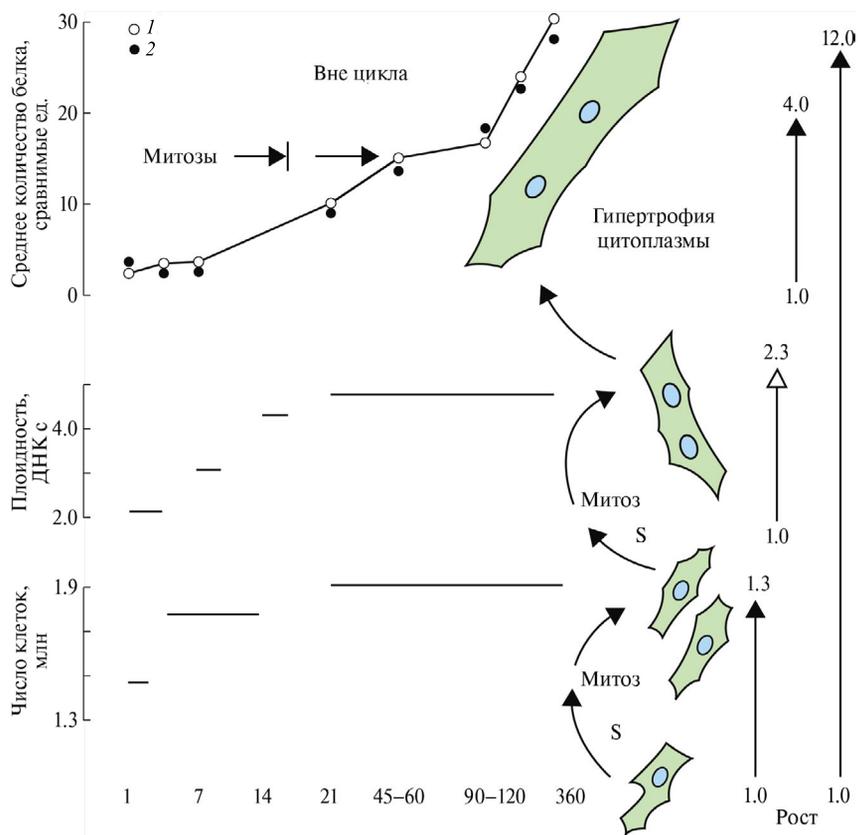
растущих был в 1.5–2 раза больше, чем у медленно растущих. Этот уровень сохранялся до 3 месяцев. Позже суммарный геном не оценивали, но митозов после 3 недель не видели.

Итак, мышцы, различно растущие в детстве, к переходу на самостоятельное питание и на всю жизнь получают миокард разной плоидности. Вес миокарда быстро (к 3 месяцам) нивелируется за счет увеличения массы цитоплазмы. Но индивидуальная вариабельность плоидности у мышей и, что важно, здоровых взрослых людей различается вдвое. Может ли это иметь какое-либо значение в жизни организма? Возможно, это играет роль при гипертрофии миокарда после тяжелых повреждений сердца, таких, например, как инфаркт (требует специального анализа).

В отношении регенерации активности миокарда ранее отмечались лишь наблюдения патологической анатомии о гипертрофии органа после инфаркта и других повреждений. Существуют две точки зрения на способность поврежденного миокарда к регенерации. Согласно одной из них, миокард обладает слабым регенераторным потенциалом (Румянцев, 1982; Soonpaa, Field, 1998). Согласно другой точке зрения, миокард обладает достаточно высокой способностью к репаративной регенерации (Urbanek et al., 2005; Leri et al., 2011). При этом предполагается, что популяция кардиомиоцитов может пополняться не только за счет их собственной пролиферативной активности, но и путем дифференцировки резидентных стволовых клеток сердца или стволовых клеток иного происхождения (Buja, Vela, 2008; Laflamme, Murry, 2011; He et al., 2020).

Гипотеза, предполагающая высокую способность сердца человека к регенерации, основана на допущении высокой скорости оборота клеток в миокарде взрослого человека в ходе его старения (Anversa et al., 2006; Kajstura et al., 2012). Согласно этой гипотезе, высокая скорость оборота кардиомиоцитов достигается за счет непрерывной замены изношенных старых миоцитов новыми клетками, которые образуются из стволовых клеток сердца. Предлагалась такая схема оборота клеток при регенерации миокарда и в ходе его старения: стволовая клетка → прогениторная клетка → клетка-предшественник → амплифицирующийся миоцит, способный к митотическому делению и содержащий небольшое количество миофибрилл → зрелый, полностью сформированный кардиомиоцит взрослого млекопитающего (Anversa et al., 2013).

Наши экспериментальные данные свидетельствуют о том, что миокард левого желудочка взрослых млекопитающих обладает очень слабой



**Рис. 1.** Кинетика роста популяции желудочковых миоцитов мышцы от одного дня после рождения до года. На верхней кривой изменения среднего содержания белков в миоцитах по данным цитофотометрии (1) сравниваются с кинетикой веса (2) желудочков (по: Brodsky, 1991, с изменениями).

способностью к регенерации путем восстановления численности миоцитов как в ходе старения, так и после его ишемического повреждения (Baidyuk et al., 2016, 2019). Не подтверждена гипотеза о ведущей роли стволовых клеток, однако вопрос их наличия в миокарде все еще дискутируется (He et al., 2020). Гипертрофия функционально активных кардиомиоцитов является единственным механизмом компенсации функции миокарда после потери клеток при старении сердца или после его повреждения. Если бы гипотеза о ведущей роли стволовых клеток была верна, на гистограммах распределения кардиомиоцитов по размерам, от стадии “амплифицирующихся” миоцитов с минимальным количеством миофибрилярных белков до зрелых кардиомиоцитов, которые содержат огромное количество этих белков, наблюдали бы непрерывный ряд размеров клеток. Однако этого не обнаружено. Кроме того, если бы кардиомиоциты формировались из диплоидных стволовых клеток, то в ходе их дифференцировки в зрелые кардиомиоциты следовало бы ожидать значительных изменений в распределении миоцитов по классам плоидности. Однако этого не наблюдалось (табл. 2).

Таким образом, экспериментальные данные позволяют заключить, что стволовые клетки сердца не играют заметной роли при физиологической или репаративной регенерации миокарда млекопитающих. К аналогичному заключению пришли и другие авторы при исследовании большого числа генов, связанных с клеточным циклом кардиомиоцитов, у мышей разного возраста и оборота миоцитов в сердце взрослых мышей с использованием стабильных изотопов азота и масс-спектрометрии, наблюдая локализацию этих изотопов в сердце (Walsh et al., 2010; Senyo et al., 2013).

В отличие от других изученных полиплоидных клеток млекопитающих, кардиомиоциты не удваивают свою массу при дупликации генома. Белковая масса тетраплоидных кардиомиоцитов соответствует не четырем геномам, а лишь трем. Октаплоидные и более высокоплоидные кардиомиоциты примерно вдвое легче, чем можно было ожидать, исходя из их суммарного генома. С таким несоответствием массы клеток их геному мышь или человек живут до глубокой старости. В работе с патанатомом Д.С. Саркисовым показано, что кардиомиоциты человека добирают массу до двойной на первом этапе гипертрофии при патологии

**Таблица 2.** Пloidность кардиомиоцитов (КМЦ) левого желудочка сердца контрольных крыс (К) и крыс с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) после инфаркта в перинфарктной (пи) и интактной (инт) зонах через 2, 6 и 26 недель после коронароокклюзии (Baidyuk et al., 2016, модифицирована), среднее  $\pm$  ошибка

Время, нед	Группа крыс	Доля КМЦ разных классов пloidности, %					Доля двуядерных КМЦ, %	Средняя пloidность КМЦ, с
		2с	2с $\times$ 2	4с	4с $\times$ 2	8с		
2	К	15.00 $\pm$ 1.72	81.50 $\pm$ 1.67	2.30 $\pm$ 0.78	1.10 $\pm$ 0.37	0.10 $\pm$ 0.10	82.60 $\pm$ 1.98	3.75 $\pm$ 0.05
	ХСН, инт	13.20 $\pm$ 1.27	82.90 $\pm$ 0.68	2.60 $\pm$ 0.60	1.30 $\pm$ 0.25	0	84.20 $\pm$ 0.78	3.79 $\pm$ 0.03
	ХСН, пи	12.70 $\pm$ 1.76	84.20 $\pm$ 2.38	2.10 $\pm$ 0.81	1.60 $\pm$ 0.29	0	85.80 $\pm$ 2.49	3.83 $\pm$ 0.05
6	К	13.38 $\pm$ 4.96	83.50 $\pm$ 4.81	2.00 $\pm$ 0.91	1.13 $\pm$ 0.38	0	84.63 $\pm$ 4.98	3.78 $\pm$ 0.11
	ХСН, инт	9.20 $\pm$ 1.66	87.00 $\pm$ 1.57	2.40 $\pm$ 0.29	1.40 $\pm$ 0.43	0	88.40 $\pm$ 1.62	3.87 $\pm$ 0.04
	ХСН, пи	8.40 $\pm$ 1.10	86.90 $\pm$ 0.58	1.80 $\pm$ 0.41	2.70 $\pm$ 0.56	0.20 $\pm$ 0.12	89.60 $\pm$ 1.02	3.95 $\pm$ 0.04
26	К	14.58 $\pm$ 1.89	81.82 $\pm$ 2.15	1.94 $\pm$ 0.39	1.5 $\pm$ 0.52	0.16 $\pm$ 0.18	83.32 $\pm$ 1.91	3.77 $\pm$ 0.03
	ХСН, инт	15.95 $\pm$ 1.52	79.76 $\pm$ 1.84	2.62 $\pm$ 0.63	1.33 $\pm$ 0.47	0.35 $\pm$ 0.27	81.08 $\pm$ 1.69	3.75 $\pm$ 0.03
	ХСН, пи	14.91 $\pm$ 1.34	81.26 $\pm$ 1.02	1.76 $\pm$ 0.49	1.99 $\pm$ 0.61	0.07 $\pm$ 0.07	83.26 $\pm$ 1.19	3.78 $\pm$ 0.05

сердца (Brodsky et al., 1994). Возможно, высокая пloidность миоцитов, сложившаяся в детстве (Brodsky et al., 1985a), дает некое преимущество перед низкой пloidностью, поскольку в высокопloidном миокарде выше резерв начального компенсаторного роста.

#### Заключеение

Миокард изученных примерно 20 видов взрослых млекопитающих и птиц образован в основном полипloidными клетками, главным образом двуядерными. Механизм полипloidизации — замена полных митозов неполными. В позднем детстве происходит необратимая остановка пролиферации кардиомиоцитов, как деления клеток, так и полипloidизации. Главный механизм роста сердца после остановки митозов в онтогенезе и при патологии — гипертрофия цитоплазмы.

## ГЕПАТОЦИТЫ ПЕЧЕНИ

Первые методические работы по цитофотометрии ДНК в интерфазных клетках проводили на гепатоцитах крысы или мыши. Найдено до 90% полипloidных клеток — одноядерных и двуядерных (напр., Nadal, Zaidela, 1966). Сложилось мнение, что паренхима печени млекопитающих всегда полипloidная. Исследование многих видов животных показало, что мышь и крыса, скорее, исключения среди других примерно 40 изученных

видов. Только пять видов исследованных млекопитающих имеют полипloidную паренхиму, и еще у пяти видов ткань полипloidная наполовину; у остальных хотя и есть полипloidные клетки, но их мало (табл. 1). В печени взрослого человека содержится до 90% диплоидных гепатоцитов, полипloidия возрастает после 50 лет и при патологии, стимулирующей пролиферацию (Watanabe et al., 1984; Kudryavtsev et al., 1993; Блинкова и др., 2017). Так, при гепатите число полипloidных гепатоцитов, в основном двуядерных, может достигать 40%.

#### Изменения пролиферации гепатоцитов в онтогенезе

Гепатоциты, так же как кардиомиоциты, новорожденных млекопитающих диплоидные. До 7–8-го дня после рождения гепатоциты интенсивно делятся. После митоза цитоплазма продолжает увеличиваться примерно на 20–30% от двойной массы (Шалахметова и др., 1981б). Рост печени в это время обеспечивается примерно на 60% пролиферацией гепатоцитов и на 40% увеличением массы цитоплазмы. С 7 до 21-го дня к началу самостоятельного питания происходит полипloidизация некоторых гепатоцитов крысы (Богданова и др., 1990). На 14–21-е сутки вклад трех способов роста в увеличение массы органа становится примерно одинаковым. В дальнейшем вклад увеличения цитоплазмы в рост печени заметно снижается и в период от 1 до 2 месяцев

составляет лишь 1%, сравнительно с размножением клеток и их полиплоидизацией. На этой стадии развития прирост массы печени на 2/3 обеспечивается размножением клеток и на 1/3 — их полиплоидизацией. В целом ускоренный рост печени крыс от момента рождения до полового созревания (2 месяца), когда масса органа увеличивается примерно в 30 раз, характеризуется следующими показателями: вклад процесса пролиферации составляет 28%, полиплоидизации — 30%, постмитотического роста цитоплазмы — 42%. В дальнейшем рост печени замедляется. В период от 2 до 6 месяцев увеличение массы печени обеспечивалось главным образом размножением клеток (76%). Вклад полиплоидизации и гипертрофии составлял 8 и 16% соответственно.

В опытах с изменением условий роста печени в первые недели жизни мышей (разные по числу кормящихся у одной самки) показано, что в гнездах по 4 мышат средний геном гепатоцитов в 1.5 раза больше, чем у мышат из гнезд по 16 (Brodsky, Delone, 1990). В день отъема от кормящихся самок (21 сут. после рождения) у избыточно и недостаточно питающихся так же различается вес мышат и их печени. К 3 месяцам отличия веса сглаживаются. Но если в миокарде различия геномов, заложенные в детстве, остаются на всю жизнь, в печени геномы гепатоцитов к 3 и 6 месяцам выравниваются и становятся сходными за счет делений и полиплоидизации клеток.

В отличие от миокарда, гепатоциты паренхимы печени мыши, крысы и человека могут входить в цикл в течение всей жизни организма. У мышат и крысят полиплоидизация гепатоцитов наиболее интенсивна в течение первых недель после рождения — во время перехода от питания молоком матери на самостоятельное питание (Brodsky, Uryvaeva, 1985; Богданова и др., 1990). К 20-му дню после рождения устанавливается постоянное соотношение диплоидных и полиплоидных гепатоцитов, и митозы становятся редкостью: один на 10–20 тыс. При этом метафазы находят постоянно. Такая слабо пролиферирующая популяция сохраняется до глубокой старости.

Сведения о регенерации печени детально изложены ранее; суммированы десятки экспериментов (Brodsky, Uryvaeva, 1985). Данные развивались до последнего времени (Wilkinson et al., 2019). При повреждении печени в любом возрасте гепатоциты входят в цикл; после стандартной (2/3) гепатэктомии циклируют все гепатоциты. В результате происходит их дальнейшая полиплоидизация. В.М. Фактор и И.В. Урываева (1975) в течение года удаляли часть печени у одной и той же мыши. Модальным

классом вместо  $2c \times 2$ ,  $4c$  и  $4c \times 2$  становился  $16c$  в одноядерном и двуядерном варианте; находили  $64c$  и даже  $128c$  клетки. Иначе регенерирует печень китайского хомячка (Сакута и др., 2011). В паренхиме хомячка около 80% диплоидных гепатоцитов. Регенерация печени после частичной гепатэктомии у этого вида происходит исключительно за счет размножения диплоидных клеток.

Усиление полиплоидизации гепатоцитов продемонстрировано во многих экспериментах с воздействием на печень различных токсических веществ, в том числе  $CCl_4$  (Кудрявцев и др., 1993; Bezborodkina et al., 2016). Через 6 месяцев воздействия на крыс  $CCl_4$  доля  $2c \times 2$  гепатоцитов в цирротической печени снижается на 25%, в то время как доля октаплоидных гепатоцитов увеличивается в 2.4 раза, по сравнению с нормальной печенью крыс того же возраста. Могут появляться гепатоциты, не характерные для печени контрольных крыс, — одноядерные  $16c$  и даже двуядерные  $16c \times 2$  клетки. Характерным признаком различных патологий печени человека, в частности вирусного гепатита, жирового гепатоза, внепеченочного холестаза и цирроза, также является усиление пролиферативной активности гепатоцитов и, как следствие, изменение распределения их по классам плоидности.

Интересной особенностью клеточной популяции паренхимы печени как у крысы, так и у человека является увеличение при циррозе доли одноядерных диплоидных гепатоцитов (Сакута, Кудрявцев, 2005). По-видимому, это явление связано с более высокой способностью  $2c$  гепатоцитов к вступлению в митотический цикл, по сравнению с полиплоидными клетками (Урываева, Маршак, 1969; Watanabe, 1970).

### Заключение

Паренхима печени всех 40 изученных видов млекопитающих содержит полиплоидные гепатоциты — одноядерные и двуядерные. Но лишь у немногих видов полиплоидные клетки преобладают; у большинства их немного, и они образуются в основном в старости или после повреждений печени и при патологии. В отличие от кардиомиоцитов, гепатоциты способны входить в митотический цикл в любом возрасте животных или человека. Основной эффект — полиплоидизация.

### ПЕРЕХОД ОТ ДЕЛЕНИЙ КЛЕТОК К ПОЛИПЛОИДИЗАЦИИ

После Гейтлера (Geitler, 1939), описавшего эндомитоз — деление хромосом внутри ядерной

оболочки у некоторых насекомых, такие сомнительные картины как будто видели у единичных видов других беспозвоночных. У позвоночных подобных картин не описывали, но термин “эндомитоз” почему-то прижился. Один из основных выводов из наблюдений клеток позвоночных — полиплоидизация является результатом обычных, но неполных митозов. Слияние клеток — крайне мало распространенное событие в нормальном онтогенезе.

Предположение о смене одноядерных и двуядерных гепатоцитов сделаны еще в 1960-е гг. (Nadal, Zaidela, 1966). Подробно динамика полиплоидизации гепатоцитов изучена в опытах с быстрой и продолжительной тимидиновой, а также с двойной  $^3\text{H}$ - и  $^{14}\text{C}$ -тимидиновой меткой (Урываева, Фактор, 1974; Brodsky, Uryvaeva, 1985). Показано, что сначала митозы останавливаются в телофазе, и образуются двуядерные клетки с диплоидными ядрами. В следующем цикле из них образуются две одноядерные тетраплоидные клетки (рис. 2). Неполный митоз каждой тетраплоидной клетки дает двуядерную с тетраплоидными ядрами, а из нее получают две октаплоидные клетки. Подобная динамика названа Дунканом “конвейером” (Duncan et al., 2010). Такая же последовательность образования полиплоидии отмечена для миокарда (Урываева и др., 1980) и пигментного эпителия сетчатки (Маршак и др., 1976).

Для некоторых клеток также известна остановка цикла в G2-периоде: хромонемы (хроматиды) удвоены, хромосомы не разделились. Повторение таких эндоциклов ведет к политении, иногда огромной: у дрозофилы более 1000с, у гигантских нейронов моллюсков и у железистых клеток шелкопряда — сотни тысяч (Brodsky, Uryvaeva, 1985). У человека скрытая политения свойственна клеткам трофобласта плаценты (Зыбина и др., 2004).

Как известно, двуядерные клетки не отличаются от одноядерных той же ploидности ( $2c \times 2$  от  $4c$ ,  $4c \times 2$  от  $8c$  и т.д.) по интенсивности транскрипции и трансляции, содержанию белков, РНК и гликогена, активности изученных ферментов, числу центриолей (Онищенко, 1978; Шалахметова и др., 1981a, б; Middleton, Cahan, 1982; Noorden et al., 1984; Безбородкина и др., 2009). То же показано в исследовании экспрессии многих генов в сердце и печени (Anatskaya, Vinogradov, 2007). По многим изученным показателям тетраплоидная клетка вдвое крупнее и активнее диплоидной, а октаплоидная — в 4 раза. Однако при огромных удвоениях генома, не свойственных млекопитающим (например, у шелкопряда), происходит так называемая компенсация дозы генов.

Рассматривая полиплоидизацию организмов, обоснованно предполагают влияние стресса: изменений температуры, солености среды и т.д. (Fox et al., 2020; Anatskaya, Vinogradov, 2022). Предположение почему-то переносится на клеточную полиплоидию. Для органов млекопитающих, например печени, обсуждают физиологический стресс. Некоторые авторы уточняют: гепатоциты полиплоидизируются при переходе от молочного питания детенышей к самостоятельному кормлению, примерно в 3 недели у мышей и крыс (Donne et al., 2020; Anatskaya, Vinogradov, 2022). Между тем известно, что полиплоидизация гепатоцитов начинается до отъема мышат и крысят от маток. Выше мы приводили опыты с выращиванием мышат в разных гнездах. Ко дню отъема (3 недели после рождения) средний геном гепатоцитов у мышат в гнездах по 4 был в 1.5 раза больше, чем у мышат из гнезд по 16 (Brodsky et al., 1985b; Brodsky, Delone, 1990).

В новых работах не обсуждается одна из альтернатив. Давно предполагались конкурентные отношения пролиферации и дифференцировки. Основным механизмом, который ведет к замене полных митозов неполными, полиплоидизирующими, могут быть конкурентные отношения между предмитотическими и тканеспецифическими процессами (синтезами), которые происходят в ходе дифференцировки клеток. Так, при стимуляции митозов в печени мышцы после частичной гепатэктомии резко снижалась функция детоксикации (Урываева, Фактор, 1976).  $\text{CCl}_4$  не токсичен для клеток; в гепатотоксин он превращается специфическими ферментами гепатоцитов. В начале активной пролиферации после гепатэктомии паренхимы печени перестала поражаться  $\text{CCl}_4$ . В регенерирующей печени снижена детоксикация различных лекарств. Известно и обратное влияние функции на пролиферацию: насыщение крысы глюкозой после частичной гепатэктомии замедляло регенераторный ответ (Takata, 1974). Выраженность конкурентных отношений в метаболизме (за АТФ, рибосомы, предшественники) объясняет варибельность уровня ploидности гепатоцитов у разных видов млекопитающих: от почти полной полиплоидизации печени у крысы и мышцы до преобладания диплоидных клеток у человека и многих других видов (табл. 1). Решающие факторы — масса тела животного, определяющая величину метаболизма, и еще больше скорость роста животного в постнатальном онтогенезе (Vinogradov et al., 2001).

Конкуренция синтезов вряд ли единственный способ перехода от полных митозов к неполным.

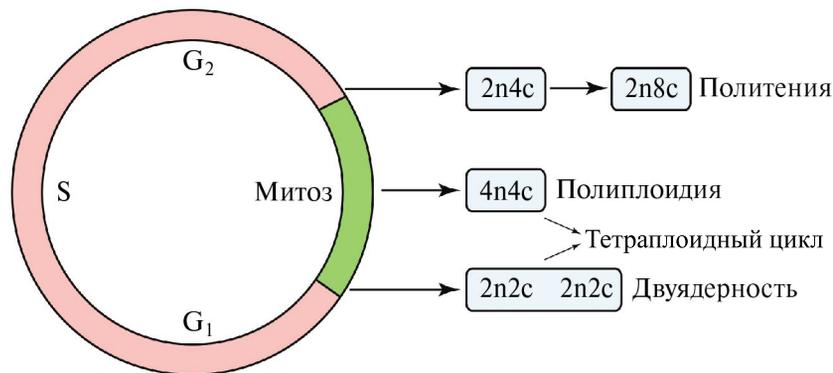


Рис. 2. Образование политенных хромосом, полипloidных и многоядерных клеток. Схема.

Вполне вероятны и прямые воздействия на гены пролиферации. Так, тетраплоидные клетки возникают у р53-дефицитных мышей при критическом укорочении теломер (Davoli et al., 2010; Davoli, Lange, 2012), в которых, по теории Оловникова (Olovnikov, 1973), могут содержаться некоторые гены пролиферации. Насколько часты прямые воздействия неясно. Конкурентные отношения пролиферации и дифференцировки повсеместны.

#### Молекулярно-генетические механизмы остановки митоза

Циклин-зависимые киназы (cyclin-dependent kinases — CDK) — известные регуляторы митотического цикла — контролируют переход от фазы к фазе, к митозу и периодам митоза (Gjelsvik et al., 2019). Активный фактор — комплекс CDK, специфичной для определенного отрезка цикла, с также специфичным циклином. Нарушения в структуре комплекса или только в циклине останавливают подготовку к делению или какой-то период митоза (Nevzorova et al., 2009; Diril et al., 2012). Результат — умножение только хромосом, нерасхождение удвоенных хромосом или образование двоядерных клеток. Так, при ингибировании CDK1/cyclinB происходит задержка в G<sub>2</sub>-периоде, и в следующем полном митозе образуются две тетраплоидные клетки. Ингибирование CDK может и предотвращать вход в цикл. Так, блокируется циклирование стволовых клеток трофобласта и образование гигантских клеток (Ullah et al., 2008). С другой стороны, повышенная экспрессия циклина 1 увеличивает многоядерность кардиомиоцитов (Soopraa et al., 1997).

Другие митотические киназы также могут изменять цикл. Так, Aurora-A экспрессируется при переходе от G<sub>2</sub> к митозу и затем при сборке веретена. Возможно влияние этой киназы на цитокинез

и образование двоядерных клеток (Marumoto et al., 2003).

Вместе с CDK или отдельно на переход от цикла деления к полипloidизации могут влиять некоторые транскрипционные и другие активные факторы, такие как Ect2, E2F, Skp2 (Minamishima et al., 2002; Chen et al., 2012; Green et al., 2012; Ouseph et al., 2012; Sladky et al., 2020).

Примечательно влияние на CDK или неясный пока самостоятельный эффект на замену делений на полипloidизацию таких регуляторных белков, как р53, ламелина, септина, или некоторых белков нейропротекторов (Sheahan et al., 2004; Ullah et al., 2008; Lin et al., 2014; Kim et al., 2016; Wang et al., 2018; Brodsky et al., 2020; Brodsky, 2022). Особое внимание привлекает YAP (yes-associated protein) — компонент сигнального пути Hippo, регулятора транскрипции генов, участвующих в пролиферации клеток (Huang et al., 2005; Noguchi et al., 2018).

Известны влияния на митотический цикл микроРНК, особенно miRNA-122, в связи с динамикой двоядерных клеток (Hsu et al., 2012).

Среди генов, влияющих на цитокинез в печени мыши, выделены Cdk1, Trp53, Cdkn1a, cMyc, Ccne, Birc5, Ssu72 (Fox et al., 2020).

#### Заключение

Молекулярно-генетические механизмы регуляции митотического цикла — одно из самых перспективных направлений изучения пролиферации и, в частности, полипloidизации клеток. Уже имеющиеся данные очень интересны, хотя во многом описательны. Одно из ограничений их значимости — принятие совпадений событий во времени с причинной их связью. Экспрессия какого-либо гена во время полипloidизации не означает регуляции умножения генома (неполного митоза) именно и только этим геном.

При полиплоидизации наряду с другими структурами удваивается число центриолей. В результате возможны мультиполярные митозы с неравным расхождением хромосом. В норме анеуплоидия редка (Duncan et al., 2012; Knouse et al., 2014), в опухолях обычна.

## КЛЕТочНАЯ ПОЛИПЛОИДИЯ В ОПУХОЛЯХ

Злокачественные опухоли образуются, как правило, в диплоидных тканях — в легких, прямой кишке, пищеводе. По мере роста опухоли образуются полиплоидные клетки. Стимуляция делений в дифференцированных клетках поддерживает идею конкурентных отношений пролиферативных и тканеспецифических синтезов (см. выше). Но в опухолях могут преобладать аберрантные митозы с нарушенным геномом полиплоидных клеток. Поэтому полиплоидия может характеризовать состояние опухоли и прогнозировать течение болезни (Lothschütz et al., 2002; Olaharski et al., 2006; Dewhurst et al., 2014; Bielski et al., 2018). Фундаментальный факт: ключевые механизмы биологии стволовых и прогениторных клеток — общие в эмбриогенезе и в канцерогенезе печени (Lee et al., 2006; Krüger, 2015). Выявлено сходство регуляторных путей в эмбриональном развитии и в прогрессии гепатокарциномы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методы выявления клеточной полиплоидии (цитофотометрия ДНК, проточная цитофлуорометрия, изучение изолированных клеток с подсчетом двуядерных и многоядерных) в последние годы принципиально не изменились. Не претерпела существенных изменений и концепция, согласно которой полиплоидия является альтернативной стратегией обеспечения роста, регенерации тканей, а также снижения рисков их заболеваний и дисфункции. Поэтому выводы работ второй половины прошлого века, обобщенные в книге, изданной в Кембридже (Brodsky, Uryvaeva, 1985), остаются основными до настоящего времени и являются следующими:

1) Клеточная полиплоидия — общебиологическое явление, один из распространенных способов роста, развития и регенерации тканей животных. Полиплоидия может быть способом дифференцировки клеток. Так, мегакарициты начинают функционировать только с октаплоидного состояния. Гигантские нейроны моллюсков функционируют высоко политенными.

2) Полиплоидизация — результат незавершенного обычного митоза. Обычная причина — конкуренция процессов пролиферации и дифференцировки, а на уровне генома по новым данным — нарушения метаболизма циклин-зависимых киназ, некоторых других митотических киназ (AURORA), транскрипционных факторов Ect2, E2F, некоторых регуляторных белков (p53, ламинин, септин), а также компонентов сигнального пути Hippo. В опытах с трансплантатами миокарда экспериментально обоснована программа на время остановки митозов.

3) Полиплоидия необратима.

4) Миокард исследованных млекопитающих, включая человека, полиплоидный орган с высокой индивидуальной вариабельностью числа одноядерных и двуядерных полиплоидных кардиомиоцитов. В опытах с изменением питания мышей в первые недели после рождения экспериментально обоснованы причины вариабельности как условия жизни в раннем постнатальном онтогенезе.

5) Единственный способ роста миокарда в онтогенезе у крысы и мыши с 21-го дня после рождения, у человека с 9—12 лет — увеличение массы цитоплазмы миоцитов. В отличие от других изученных полиплоидных клеток млекопитающих, масса полиплоидных кардиомиоцитов не соответствует дозе генов; кардиомиоциты дорастают до нормальной для генома массы после тяжелых повреждений сердца (инфаркта) как первая фаза компенсаторной гипертрофии; чем более полиплоидный миокард (что произошло в детстве), тем больше резерв роста при гипертрофии.

Положительные эффекты полиплоидизации клеток можно видеть в следующем.

Полиплоидный геном устойчивее диплоидного. Разрушение аллельной пары в наборе приводит к гибели диплоидной клетки в митозе, а полиплоидная клетка выживает за счет целых хромосом другого набора. Первым это положение обосновал Б.Л. Астауров (Тульцева, Астауров, 1958), сравнив устойчивость к радиации диплоидов и полиплоидов тутового шелкопряда. То же показали В.В. Сахаров и соавт. (1960), обнаружив большую устойчивость тетраплоидов гречихи к радиации, сравнительно с диплоидами. Во многих исследованиях выявлена защищенность полиплоидных клеток *in vitro* и *in situ*. Проблема рассмотрена В.А. Струнниковым и соавт. (1982). Алкилирующий препарат дипин вызывал огромное количество хромосомных aberrаций в регенерирующей печени мыши; при этом сохранялись лишь высокоплоидные клетки (Урываева, Фактор, 1982). Полиплоидные клетки яичника дрозофилы устойчивы к радиации, тогда как диплоидные гибнут (Mehrotra et al., 2008; Hassel et al., 2014).

Поскольку полиплоидная клетка крупнее и активнее диплоидной, полиплоидия способствует сокращению числа клеток в органе. Тем самым облегчается регуляция функций миокарда, синхронизация сокращений мышцы. На модели синхронно работающего сердца И.М. Гельфандом и М.Л. Цетлиным (1960) разработана первая математическая модель прямых межклеточных взаимодействий при синхронизации функций. Прекращение митозов важно для функции органа, работающего синхронно. Существенно для функции миокарда и прекращение профазной деструкции миофибрилл. Сначала в онтогенезе блокируются деления миоцитов, затем и неполные (полиплоидизирующие) митозы.

Двуядерность клеток, а их более половины от всей численности кардиомиоцитов у изученных млекопитающих, а также гепатоцитов у некоторых видов, может влиять на ядерно-цитоплазматические отношения. Особенно существенно это может проявляться в четырехъядерных  $2c + 2c + 2c + 2c$  клетках, сравнительно с одноядерными октаплоидными клетками.

Несоответствие постмитотического роста цитоплазмы дозе генов создает резерв гипертрофии при тяжелой патологии сердца. Первая фаза гипертрофии — нормальное дорастание кардиомиоцитов до двойной массы. В этом случае очевидно преимущество полиплоидии. Возможно, и это является задачей будущих исследований, высокоплоидный миокард, сложившийся в детстве, полноценнее реагирует на инфаркт (компенсацию функций сердца) за счет первой фазы гипертрофии.

Использование методов биоинформатики (Pardit et al., 2013) показало, что на полиплоидию не реагируют гены гепатоцитов (структурно и функционально), а из многих тысяч генов мегакариоцитов и эндотелия — лишь единичные. Еще на одном уровне определена полноценность полиплоидии для биологии клеток.

Таким образом, наш обзор данных о клеточной полиплоидии и особенно полиплоидизации миокарда и печени млекопитающих обобщает базовые данные, что необходимо для продвижения современных исследований с использованием подходов молекулярной биологии.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Благодарим сотрудников Института биологии развития РАН В.М. Фактор, А.М. Арефьеву, Т.Л. Маршак и сотрудников Института цитологии РАН О.В. Анацкую, Е.В. Байдюк, Т.Г. Зыбину, Г.А. Сакута и Алма-Атинского университета Т.М. Шалахметову, а также сотрудника

Мичиганского университета Б. Карлсона — соавторов наших работ.

Признательны В.В. Терских, Э.Н. Григорян и А.В. Васильеву за существенные замечания по тексту статьи.

С печалью и уважением мы вспоминаем покойных И.В. Урываеву, М.В. Кудрявцеву, Г.В. Делоне и С.А. Комарова — исследователей феномена клеточной полиплоидии и, в частности, полиплоидии в миокарде и в печени.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа входит в тему № 4 НИР ИБР РАН, номер ГЗ 0088-2021-0016, номер НИОКТР АААА-А21-121011490124-0.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проекта № 21-73-20264).

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием животных в качестве лабораторных объектов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Безбородкина Н.Н., Вахтина А.А., Байдюк Е.В., Якупова Г.С., Кудрявцев Б.Н., 2009. Взаимосвязь между содержанием гликогена в гепатоцитах и их размером в нормальной и цирротической печени крыс // Цитология. Т. 51. С. 417–427.
- Блинкова Н.Б., Сазонов С.В., Леонтьев С.Л., 2017. Полиплоидия гепатоцитов в регенерации печени при хроническом гепатите у пациентов из разных возрастных групп. Екатеринбург: Юника. 106 с.
- Богданова М.С., Кудрявцева М.В., Кузнецова И.М., Шалахметова Т.М., Завадская Е.Э. и др., 1990. Оценка относительного вклада процессов пролиферации, полиплоидизации и гипертрофии клеток в увеличении массы печени на разных стадиях постнатального развития крыс // Цитология. Т. 43. С. 695–703.
- Большакова Г.Б., 1980. Возрастные и топографические особенности пролиферации кардиомиоцитов после различного рода повреждения миокарда крыс // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.: МГУ. 23 с.
- Гельфанд И.М., Цетлин М.Л., 1960. О континуальных моделях управляющих систем // ДАН СССР. Т. 131. С. 1242–1245.
- Зыбина Т.Г., Франк Х., Бистерфельд Ш., Кауфман П., 2004. Умножение генома клеток вневорсиночного трофобласта в плаценте человека // Цитология. Т. 46. С. 640–648.

- Коган М.Е., Белов Л.Н., Леонтьева Т.А., 1976. Определение количества клеток методом щелочной диссоциации // *Арх. патологии*. Т. 38. С. 77–80.
- Кудрявцев Б.Н., Анацкая О.В., Нилова В.К., Комаров С.А., 1997. Взаимосвязь параметров митохондриального и миофибрилярного аппаратов кардиомиоцитов с уровнем их плоидности и гипертрофии у некоторых видов млекопитающих, различающихся по массе тела // *Цитология*. Т. 39. С. 946–962.
- Кудрявцев Б.Н., Кудрявцева М.В., Сакута Г.А., Скорина А.Д., Штейн Г.И., 1993. Исследование полиплоидизации гепатоцитов при некоторых хронических заболеваниях печени у человека // *Цитология*. Т. 35. С. 70–83.
- Лопашов Г.В., Строева О.Г., 1963. Развитие глаза в свете экспериментальных исследований. М.: Изд-во АН СССР. 206 с.
- Мартынова М.Г., Селиванова Г.В., Власова Е.Д., 2002. Уровень плоидности и число ядер кардиомиоцитов у миноги и рыб // *Цитология*. Т. 44. С. 387–393.
- Маршак Т.Л., Строева О.Г., Бродский В.Я., 1976. Специализация одноядерных и двухядерных клеток пигментного эпителия сетчатки крыс в раннем постнатальном развитии // *Журн. общ. биологии*. Т. 37. С. 608–614.
- Онищенко Г.Е., 1978. Соответствие числа центриолей плоидности гепатоцитов в печени мыши // *Цитология*. Т. 20. С. 395–399.
- Румянцев П.П., 1982. Кардиомиоциты в процессах репродукции, дифференцировки и регенерации. Л.: Наука. 288 с.
- Сакута Г.А., Байдюк Е.В., Жумангалиева А.А., Кудрявцев Б.Н., 2011. Особенности регенерации печени китайского хомячка *Cricetulus griseus* // *Цитология*. Т. 53. С. 868–873.
- Сакута Г.А., Кудрявцев Б.Н., 2005. Клеточные механизмы регенерации цирротически измененной печени крыс. II. Влияние частичной гепатэктомии на пролиферацию, полиплоидизацию и гипертрофию гепатоцитов // *Цитология*. Т. 47. С. 379–387.
- Сахаров В.В., Мансурова В.В., Платонова Р.Н. Щербанов В.И., 1960. Обнаружение физиологической защищенности от ионизирующих излучений у аутогетероплоидов гречихи // *Биофизика*. Т. 5. С. 558–565.
- Струнников В.А., Урываева И.В., Бродский В.Я., 1982. Двухмутационная гипотеза канцерогенеза и защитное значение полиплоидии соматических клеток // *ДАН СССР*. Т. 264. С. 1246–1249.
- Тулъцева Н.М., Астауров Б.Л., 1958. Повышенная устойчивость полиплоидных шелкопрядов и общая теория ионизирующих излучений // *Биофизика*. Т. 3. С. 183–189.
- Урываева И.В., Арефьева А.М., Бродский В.Я., 1980. Механизмы полиплоидизации сердечных миоцитов мыши // *Бюлл. эксперим. биологии и медицины*. Т. 89. С. 219–222.
- Урываева И.В., Маршак Т.Л., 1969. Анализ пролиферации диплоидных и полиплоидных клеток в регенерирующей печени мыши // *Цитология*. Т. 11. С. 1252–1258.
- Урываева И.В., Фактор В.М., 1974. Включение <sup>3</sup>H-тимидина в клетки регенерирующей печени мыши. Пульсовое и продолжительное мечение // *Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии*. Т. 66. С. 54–61.
- Урываева И.В., Фактор В.М., 1976. Взаимоотношения между клеточными функциями и делением // *Цитология*. Т. 18. С. 1354–1359.
- Урываева И.В., Фактор В.М., 1982. Образование аберрантных гепатоцитов при действии алкилирующего препарата дипина и стимуляция пролиферации // *Цитология*. Т. 24. С. 911–917.
- Фактор В.М., Урываева И.В., 1975. Усиление полиплоидии в печени мыши при повторяющихся гепатэктомиях // *Цитология*. Т. 17. С. 909–915.
- Шалахметова Т.М., Кудрявцева М.В., Завадская Е.Е., Комарова Н.И., Комаров С.А., Кудрявцев Б.Н., 1981а. Содержание гликогена в гепатоцитах, синтезирующих и не синтезирующих ДНК у крыс разного возраста // *Цитология*. Т. 23. С. 539–544.
- Шалахметова Т.М., Кудрявцева М.В., Кудрявцев Б.Н., 1981б. Содержание белков в гепатоцитах разной плоидности в постнатальном развитии крыс // *Цитология*. Т. 23. С. 674–680.
- Anatskaya O.V., Vinogradov A.E., 2007. Genome multiplication as adaptation to tissue survival: Evidence from gene expression in mammalian heart and liver // *Genomics*. V. 89. P. 70–80.
- Anatskaya O.V., Vinogradov A.E., 2022. Polyploidy as fundamental phenomenon in evolution, development, adaptation and diseases // *Int. J. Mol. Sci.* V. 23. P. 3542–3566.
- Anatskaya O.V., Vinogradov A.E., Kudryavtsev B.N., 2001. Cardiomyocyte ploidy levels in birds with different growth rates // *Exp. Zool.* V. 289. P. 48–58.
- Anversa P., Kajstura J., Leri A., Bolli R., 2006. Life and death of cardiac stem cells: A paradigm shift in cardiac biology // *Circulation*. V. 113. P. 1451–1463.
- Anversa P., Kajstura J., Rota M., Leri A., 2013. Regenerating new heart with stem cells // *J. Clin. Invest.* V. 123. P. 62–70.
- Baidyuk E.V., Gudkova A.Ya., Sakuta G.A., Semernin E.N., Stepanov A.V., Kudryavtsev B.N., 2016. Stem cells do not play a significant role in repopulation of adult human cardiomyocytes // *Cell Tissue Biol.* V. 10. P. 114–121.
- Baidyuk E.V., Sukuta G.A., Vorobev M.L., Karpov A.A., Rogozha O.V., Kudryavtsev B.N., 2019. Ventricular cardiomyocytes characterization in the process of postinfarction myocardial remodeling // *Cytom. A.* V. 95. P. 730–736.
- Bailey E.C., Kobielski S., Park J., Losick V.P., 2021. Polyploidy in tissue repair and regeneration // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* V. 13. P. 1–21.
- Bezborodkina N.N., Chestnova A.Yu., Vorobev M.L., Kudryavtsev B.N., 2016. Glycogen content in hepatocytes is related with their size in normal rat liver but not in cirrhotic one // *Cytom. A.* V. 89. P. 357–364.

- Bielski G.M., Zehir A., Penson A.V., Donoghue M.T., Chaitila W., et al.*, 2018. Genome doubling shapes the evolution and prognosis of advanced cancers // *Nat. Genet.* V. 50. P. 1189–1195.
- Brodsky V.Y.*, 1991. Cell ploidy in the mammalian heart // *The Development and Regenerative Potential of Cardiac Muscle* / Eds Oberpriller J.O. et al. Chur: Harwood Acad. Press. P. 253–292.
- Brodsky V.Y.*, 2022. Ultradian signals and direct cell-to-cell communication. M.: Publishing Office Pero. 246 p.
- Brodsky V.Y., Delone G.V.*, 1990. Functional control of hepatocyte proliferation. Comparison with temporal control of hepatocyte proliferation // *Biomed. Sci.* V. 1. P. 467–470.
- Brodsky V.Y., Delone G.V., Tsirekidze N.N.*, 1985a. Genome multiplication in cardiomyocytes of fast- and slow-growing mice // *Cell Differ.* V. 17. P. 175–181.
- Brodsky V.Y., Carlson B.M., Arefyeva A.M., Vasilieva I.A.*, 1988. Polyploidization of transplanted cardiac myocytes // *Cell Differ.* V. 25. P. 177–184.
- Brodsky V.Y., Chernyaev A.I., Vasilieva I.A.*, 1991. Variability of the cardiomyocyte ploidy in normal human hearts // *Virchows Arch. B. Cell. Pathol. Incl. Mol. Pathol.* V. 61. P. 289–294.
- Brodsky V.Y., Sarkisov D.S., Arefyeva A.M., Panova N.V.*, 1993. DNA and protein relations in cardiac myocytes // *J. Histochem.* V. 37. P. 199–206.
- Brodsky V.Y., Sarkisov D.S., Arefyeva A.M., Panova N.V.*, 1994. Polyploidy in cardiac myocytes of normal and hypertrophic human hearts; range of values // *Virchows Arch.* V. 424. P. 429–437.
- Brodsky V.Y., Tsirekidze N., Arefyeva A.*, 1985b. Mitotic-cyclic and cycle-independent growth of cardiomyocytes // *J. Mol. Cell. Cardiol.* V. 17. P. 445–455.
- Brodsky V.Y., Uryvaeva I.V.*, 1985. Genome Multiplication in Growth and Development. Cambridge: Cambridge Univ. Press. 305 p.
- Brodsky V.Y., Zolotarev Y.A., Malchenko L.A., Andreeva L.A., Lazarev D.S., et al.*, 2020. The administration of Semax and HLDF-6 peptides to rats regulates protein synthesis rhythm in hepatocytes and corrects senescent disturbances // *Russ. J. Dev. Biol.* V. 51. P. 99–105.
- Buja L.M., Vela D.*, 2008. Cardiomyocyte death and renewal in the normal and diseased heart // *Cardiovasc. Pathol.* V. 17. P. 349–374.
- Chen H.Z., Ouseph M.M., Pecot T., Chokshi V., Kent L., et al.*, 2012. Canonical and atypical E2Fs regulate the mammalian endocycle // *Nat. Cell Biol.* V. 14. P. 1192–1202.
- Davoli T., Denchi E.L., Lange T., de*, 2010. Persistent telomere damage induces bypass of mitosis and tetraploidy // *Cell.* V. 141. P. 81–93.
- Davoli T., Lange T., de*, 2012. Telomere driven tetraploidization occurs in human cells undergoing crisis and promotes transformation of mouse cells // *Cancer Cell.* V. 21. P. 765–776.
- Derks W., Bergmann O.*, 2020. Polyploidy in cardiomyocytes: Roadblock to heart regeneration // *Circ. Res.* V. 126. P. 552–565.
- Dewhurst S.M., McGrahan N., Burell R.A., Rowan A.J., Gronroos E., et al.*, 2014. Tolerance of whole genome doubling propagates chromosomal instability and accelerates cancer genome evolution // *Cancer Discov.* V. 4. P. 175–185.
- Diril M.K., Ratnacaram C.K., Patmakumaz V.C., Du T., Wasser M., et al.*, 2012. Cyclin, dependent kinase1 (Cdk1) is essential for cell division and suppression of DNA re-replication but not for liver regeneration // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* V. 109. P. 3826–3831.
- Donne R., Saroul-Ainama M., Cordier P., Celton-Morizur C., Desdouets C.*, 2020. Polyploidy in liver development, homeostasis and disease // *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* V. 17. P. 391–405.
- Duncan A.W., Newell A.E., Smith L., Wilson E.M., Olson S.R., et al.*, 2012. Frequent aneuploidy among normal human hepatocytes // *Gastroenterology.* V. 142. P. 25–28.
- Duncan A.W., Taylor M.H., Hickey R.D., Newell A.E., Lenzi M.L., et al.*, 2010. The ploidy conveyor of mature hepatocytes as a source of genetic variation // *Nature.* V. 467. P. 707–710.
- Ellman D.G., Slaiman I.M., Mathiesen S.B., Andersen K.S., Hofmeister W., et al.*, 2021. Apex resection in zebrafish (*Danio rerio*) as a model of heart regeneration: A video-assisted guide // *Int. J. Mol. Sci.* V. 22. P. 5865–5879.
- Fox D.T., Soltis D.E., Soltis P.S., Ashman T.-L., Van de Peer Y.*, 2020. Polyploidy: A biological force from cells to ecosystems // *Trends Cell Biol.* V. 30. P. 688–694.
- Geitler L.*, 1939. Die Entstehung der Polyploiden Soma-tokerne der Heteropteren durch Chromosometeilung ohne Kernteilung // *Chromosoma.* Bd. 1. S. 1–22.
- Gjelsvik K.J., Besen-McNally R., Losick V.P.*, 2019. Solving the polyploid mystery in health and disease // *Trends Genet.* V. 35. P. 6–14.
- Gonzalez-Rosa J.M., Sharpe M., Field D., Soonpaa M.H., Field L.J., et al.*, 2018. Myocardial polyploidization creates a barrier to heart regeneration in Zebrafish // *Dev. Cell.* V. 44. P. 433–446.
- Green R.A., Paluch E., Oegema K.*, 2012. Cytokinesis in animal cells // *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* V. 28. P. 29–58.
- Grigoryan E.N.*, 2022. Cell sources for retinal regeneration // *Cells.* V. 11. P. 3755–3783.
- Hassel C., Zhang B., Dixon M., Calvi B.R.*, 2014. Induction of endocycles represses apoptosis independently of differentiation and predisposes cells to genome instability // *Development.* V. 141. P. 112–123.
- He L., Nguyen N.B., Ardehali R., Zhou B.*, 2020. Heart regeneration by endogenous stem cells and cardiomyocyte proliferation: controversy, fallacy, and progress // *Circulation.* V. 142. P. 275–291.
- Hsu S.H., Wang B., Kota J., Yu J., Costinean S., et al.*, 2012. Essential metabolic, anti-inflammatory, and

- anti-tumorigenic functions of miR-122 in liver // *J. Clin. Invest.* V. 122. P. 2871–2883.
- Huang J., Wu S., Barrera J., Matthews K., Pan D., 2005. The Hippo signaling pathway coordinately regulates cell proliferation and apoptosis by inactivating Yorkie, the *Drosophila* Homolog of YAP // *Cell.* V. 122. P. 421–434.
- Kajstura J., Rota M., Cappelletta D., Ogórek B., Arranto C., et al., 2012. Cardiomyogenesis in the aging and failing human heart // *Circulation.* V. 126. P. 1869–1881.
- Kim S.H., Leon Y., Kim J.-K., Lim H.J., Kang D., et al., 2016. Hepatocyte homeostasis for chromosome ploidy and liver function is regulated by Ssu72 protein phosphatase // *Hepatology.* V. 63. P. 247–259.
- Kirillova A., Han L., Liu H., Kunn B., 2021. Polyploid cardiomyocytes: Implications for heart regeneration // *Development.* V. 148. P. 1–10.
- Knouse K.A., Wu J., Whittaker C.A., Amon A., 2014. Single cell sequencing reveals low levels of aneuploidy across mammalian tissues // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* V. 111. P. 13409–13414.
- Krüger A., 2015. Premetastatic niche formation in the liver: Emerging mechanisms and mouse models // *J. Mol. Med. (Berl.).* V. 93. P. 1193–1201.
- Kudryavtsev B.N., Kudryavtseva M.V., Sakuta G.A., Stein G.I., 1993. Human hepatocyte polyploidization kinetics in the course of life cycle // *Virchows Arch. B. Cell. Pathol. Incl. Mol. Pathol.* V. 64. P. 387–393.
- Laflamme M.A., Murry C.E., 2011. Heart regeneration // *Nature.* V. 473. P. 326–335.
- Lee J.S., Heo J., Libbrecht L., Chu I.S., Kaposi-Novak P., et al., 2006. A novel prognostic subtype of human hepatocellular carcinoma derived from hepatic progenitor cells // *Nat. Med.* V. 12. P. 410–416.
- Leri A., Kajstura J., Anversa P., 2011. Mechanisms of myocardial regeneration // *Trends Cardiovasc. Med.* V. 21. P. 52–58.
- Lin Z., Gise A., Zhou P., Gu F., Ma G., et al., 2014. Cardiac-specific YAP activation improves cardiac function and survival in an experimental murine MI model // *Circ. Res.* V. 115. P. 354–363.
- Lothschütz D., Jenneswein M., Pahl S., Lausberg H.F., Eichler A., et al., 2002. Polyploidization and centrosome hyperamplification in inflammatory bronchi // *Inflamm. Res.* V. 51. P. 416–422.
- Marumoto T., Honda S., Hara T., Nitta M., Hirota T., et al., 2003. Aurora-A kinase maintains the fidelity of early and late mitotic events in HeLa cells // *J. Biol. Chem.* V. 278. P. 51786–51795.
- Mehrotra S., Maqbool S.B., Kolpakas A., Murnen K., Calvi B.R., 2008. Endocycling cells do not apoptose in response to DNA rereplication genotoxic stress // *Genes Dev.* V. 22. P. 3158–3171.
- Middleton J., Cahan P.B., 1982. A quantitative cytochemical study of acid phosphatases in hepatocytes of different ploidy classes from adult rats // *Exp. Gerontol.* V. 17. P. 267–272.
- Minamishima Y.A., Nakayama K., Nakayama K., 2002. Recovery of liver mass without proliferation of hepatocytes after partial hepatectomy in Skp2-deficient mice // *Cancer Res.* V. 62. P. 995–999.
- Nadal C., Zaidela F., 1966. Poliploidie somatique dans le foie de rat: I. Le rôle des cellules binucléées dans la genèse des cellules polyploïdes // *Exp. Cell Res.* V. 42. P. 99–116.
- Nevzorova Y.A., Tschaharganeh D., Gassler N., Geng Y., Weiskirchen R., et al., 2009. Aberrant cell cycle progression and endoreplication in regenerating livers of mice that lack a single Etype cyclin // *Gastroenterology.* V. 137. P. 691–703.
- Noguchi S., Saito A., Nagase T., 2018. YAP/TAZ signaling as a molecular link between fibrosis and cancer // *Int. J. Mol. Sci.* V. 20. P. 3674–3685.
- Noorden C.J.F. van, Vogels J.M., Houtkooper G., Tas J., James J., 1984. Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in individual rat hepatocytes of different ploidy classes. I. Developments during postnatal growth // *Eur. J. Cell Biol.* V. 33. P. 157–162.
- Oberpriller J.O., Oberpriller J.C., Arefieva A.M., Mitashov V.I., Carlson B., 1988. Nuclear characteristics of cardiac myocytes following the proliferative response to mincing of the myocardium in the adult newt // *Cell Tissue Res.* V. 253. P. 619–624.
- Olaharski A.J., Sotelo R., Solozzo-Luna G., Gonselblatt M.E., Guzman P., et al., 2006. Tetraploidy and chromosomal instability are early events during cervical carcinogenesis // *Carcinogenesis.* V. 27. P. 337–343.
- Olovnikov A.M., 1973. A theory of marginotomy: The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon // *J. Theor. Biol.* V. 41. P. 181–190.
- Ouseph M.M., Li J., Chen H.-Z., Pecot T., Wenzel P., et al., 2012. Atypical E2F repressors and activators coordinate placental development // *Dev. Cell.* V. 22. P. 849–862.
- Pandit S.K., Westendorp B., Bruin A., de, 2013. Physiological significance of polyploidization in mammalian cells // *Trends Cell Biol.* V. 23. P. 556–566.
- Poss K.D., Minami E., Poppa V., Murry C.E., 2002. Heart regeneration in zebrafish // *Science.* V. 298. P. 2188–2190.
- Rumyantsev P.P., 1977. Interrelations of the proliferation and differentiation processes during cardiac myogenesis and regeneration // *Int. Rev. Cytol.* V. 51. P. 187–273.
- Senyo S.E., Steinhilber M.L., Pizzimenti C.L., Yang V.K., Cai L., et al., 2013. Mammalian heart renewal by pre-existing cardiomyocytes // *Nature.* V. 493. P. 433–436.
- Sheahan S., Bellamy C.O., Treanor L., Harrison D.J., Prost S., 2004. Additive effect of p53, p21 and Rb deletion in triple knockout primary hepatocytes // *Oncogene.* V. 23. P. 1489–1497.
- Sladky V.C., Knapp K., Soratroi C., Heppke J., Eichin F., et al., 2020. E2F-family members engage the PIDDosome to limit hepatocyte ploidy in liver development and regeneration // *Dev. Cell.* V. 52. P. 335–349.

- Soonpaa M.H., Field L.J., 1998. Survey of studies examining mammalian cardiomyocyte DNA synthesis // *Circ. Res.* V. 83. P. 15–26.
- Soonpaa M.H., Koh G.Y., Pajak L., Jing S., Wang H., et al., 1997. Cyclin D1 overexpression promotes cardiomyocyte DNA synthesis and multinucleation in transgenic mice // *J. Clin. Invest.* V. 99. P. 2644–2654.
- Takamasu T., Nakanishi K., Fukuda M., Fujita S., 1983. Cytofluorimetric DNA-determination in infant, adolescent, adult and aging human hearts // *Histochemistry.* V. 77. P. 485–494.
- Takata T., 1974. Role of liver function on liver cell mitosis // *Acta Med. Okayama.* V. 28. P. 199–212.
- Ullah Z., Kohn M.J., Yagi R., Vassilev L.T., DePamphilis M.L., 2008. Differentiation of Trophoblast stem cells into giant cells is triggered by p57/Kip2 inhibition of CDK1 activity // *Genes Dev.* V. 22. P. 3024–3036.
- Urbanek K., Rota M., Cascapera S., Bearzi C., Nascimbene A. et al., 2005. Cardiac stem cells possess growth factor-receptor systems that after activation regenerate the infarcted myocardium, improving ventricular function and long-term survival // *Circ. Res.* V. 97. P. 663–673.
- Vinogradov A.E., Anatskaya O.V., Kudryavtsev B.N., 2001. Relationship of hepatocyte ploidy levels with body size and growth rate in mammals // *Genome.* V. 44. P. 350–360.
- Walsh S., Pontén A., Fleischmann B.K., Jovinge S., 2010. Cardiomyocyte cell cycle control and growth estimation *in vivo* — an analysis based on cardiomyocyte nuclei // *Cardiovasc. Res.* V. 86. P. 365–373.
- Wang J., Batourina E., Schneider K., Souza S., Swaine T., et al., 2018. Polyploid superficial cells that maintain the urothelial barrier are produced via incomplete cytokinesis and endoreplication // *Cell Rep.* V. 25. P. 464–477.
- Watanabe M., 1970. Synthesis in polyploid and binucleated hepatic cells // *Nagoya J. Med. Sci.* V. 33. P. 1–11.
- Watanabe T., Tanaka Y., Kimula Y., 1984. A cytophotometric study on the centenarian hepatocyte // *Virchows Arch. B. Cell. Pathol. Incl. Mol. Pathol.* V. 46. P. 265–268.
- Wilkinson P.D., Delgado E.R., Alencastro F. et al., 2019. The polyploid state restricts hepatocyte proliferation and liver regeneration in mice // *Hepatology.* V. 69. P. 1242–1258.

## Cell polyploidy. Cardiac muscle. Liver. Ontogenesis and regeneration

V. Ya. Brodsky<sup>a, \*</sup>, B. N. Kudryavtsev<sup>b</sup>, N .N. Bezborodkina<sup>c, \*\*</sup>

<sup>a</sup>Koltzov Institute of Developmental Biology, RAS  
Vavilov Str., 26, Moscow, 119334 Russia

<sup>b</sup>Saint-Petersburg State University  
University Ave, 26, St Petersburg, 198504 Russia

<sup>c</sup>Zoological Institute, RAS  
Universitetskaya Emb., 1, St Petersburg, 199034 Russia

\*E-mail: brodsky.idb@bk.ru

\*\*E-mail: Natalia.Bezborodkina@zin.ru

Cell (somatic) polyploidy is a general biological phenomenon characteristic of unicellular and multicellular animals and plants. In mammals, polyploid cells occur in all tissues; in some cases they are few in number, while in other cases they may be the most numerous cells in an organ. The mechanism of polyploidization is a usual, but incomplete, mitosis. The cause of incompleteness of the mitosis is competition between proliferation and differentiation. At the genome level, the cause is associated with metabolic disorders of cyclin-dependent kinases, some other mitotic kinases (AURORA), transcription factors Ect2, E2F, some regulatory proteins (p53, laminin, septin), and components of the Hippo signalling pathway. The timing of polyploidization is restricted to early postnatal ontogenesis and, as experiments with heart transplants have shown, is part of the developmental programme. A typical way of genome multiplication is the change from binucleate to polyploid mononucleate cells from cycle to cycle. Polyploidization of cells is irreversible. It is a normal mechanism of organ growth and, for some cells, a way of differentiation. Using cardiac muscle and liver as examples, it has been shown that the composition and number of polyploid cells depend on the life conditions in the early postnatal period. After leaving the mitotic cycle, the cells continue to grow; postmitotic hypertrophy is one of the main ways of the growth of the cardiac muscle in ontogenesis and the only way of its regeneration. A certain growth reserve of the cardiac muscle in case of damage (heart attack, etc.) has been revealed, which is associated with its ploidy formed in childhood. In case of damage to mammalian liver, all hepatocytes enter the cycle and both cell division and polyploidization occur. Polyploidy in the course of ontogenesis up to the stage of aging fully complements the restoration of tissue and organ activity.