

ELŻBIETA KOWALSKA, TADEUSZ MARCINKOWSKI

Szczecin

POLIPLOIDIA W MIĘŚNIU SERCOWYM CZŁOWIEKA A ZJAWISKA PODOBNE W NIEKTÓRYCH USTROJACH ŻYWYCH

WSTĘP

U większości organizmów — w części ich tkanek — wraz z procesami różnicowania się komórek embrjonalnych w komórki trwale nie dzielące się już dalej — zachodzi często jedno- lub wielokrotny proces endomitozy prowadzący do powstania komórek poliploidalnych. Stopień poliploidalności może wahać się od jąder tetraploidalnych do 1024- i 2048-ploidalnych. Wysoki stopień poliploidalności endomitotycznej spotyka się u *Diptera*, gdzie nie ulega wątpliwości, że chromosomy śliniankowe owadów stanowią krańcowe przykłady endomitotycznej poliploidyzacji dochodzącej do stopnia około 16000 (Gajewski 1955).

Endomitotyczna poliploidia zarówno w świecie zwierzęcym, jak i roślinnym, jest specyficzna dla określonych organów tkanek i komórek. Jej znaczenie funkcjonalne nie jest poznane. Nie jest też ona przypadkowa i niewątpliwie jest związana z procesami różnicowania się określonych tkanek i ich funkcjami w organizmie. Występowanie tego zjawiska wiąże się z przebiegiem rozwoju poszczególnych organów, na przykład u *Heteroptera* epiderma i system nerwowy pozostają stale diploidalne i wykazują stałą zdolność do podziałów mitotycznych. Gruczoły ślinowe natomiast już w I stadium larwalnym cechują się wysokim stopniem endomitotycznej poliploidii oraz różnicują się w okresie embrjonalnym, a dalej wzrastają tylko przez powiększanie wymiarów komórek bez podziałów.

Zawartość DNA w różnych komórkach tego samego organizmu może ulegać zmianom, a zmiany te mają najczęściej określony charakter. Zwykle są związane z różnicami w liczbie chromosomów, aneuploidią lub poliploidią (Swanson i współaut. 1970). W większości komórek somatycznych liczba chromosomów wynosi $2n$. Nie zawsze jednak to zachodzi. W komórkach wątroby szczurów występują ogromne jądra, które zawierają dwa lub cztery razy tyle DNA co jądra diploidalne. To podwojenie lub czterokrotne zwiększenie ilości DNA wiąże się najwyraźniej z poliploidią. Bez wątplenia w komórkach wątroby szczurów wzrost

zawartości DNA wiąże się z wiekiem zwierzęcia i replikacją DNA — zachodzącą głównie przez endomitozę.

Metody cytofotometryczne pozwalają na analizę pojedynczych jąder i wykrycie interesujących korelacji w stosunku zawartości DNA do zmieniającej się objętości komórki (Sandritter 1973). Jeżeli w tkankach, które normalnie są diploidalne, wykrywa się jakieś zmiany w ilości DNA, na przykład w różnego rodzaju guzach, są one wynikiem aneuploidii lub poliploidii, ale nie zawsze wynikiem endomitozy, gdyż występują tu również zaburzenia w mitozach, które mogą prowadzić do endo- i poliploidalności. Dowodzą tego liczne prace (m.in.: Levi i współaut. 1969, Barlogie i współaut. 1978, Tribukait i współaut. 1979, Czerniak i współaut. 1984, 1988). Zmiany ilości DNA stwierdzono także w komórkach ostrej białaczki limfatycznej u dzieci (Krygier-Stojałowska i współaut. 1986, Look i współaut. 1982).

POLIPLOIDIA W MIĘŚNIU SERCOWYM

Wiadomo, że chromosomy są odpowiedzialne za rolę jądra w fizjologicznych procesach komórki. Mało natomiast wiadomo o znaczeniu jądra komórkowego. Schiefferdecker (1916) stwierdzał dwie klasy jąder pod względem wielkości w normalnych komórkach, badanych w różnych okresach życia człowieka i w miokardiopatiach. Jądra powiększone miały nieregularny kształt i nastęrczały trudności w dokładnych pomiarach objętości w skrawkach histologicznych. Jak wynika z badań cytofotometrycznych (Sandritter i Scomazzoni 1964) normalnych i hipertroficznycy serc ludzkich, zwiększenie zawartości DNA jąder komórek i pojawienie się większego stopnia poliploidyzacji następuje wraz ze wzrostem masy serca i zwłóknieniem do pewnej granicy (w sercach o masie 980 g nie ma już w ogóle 32c DNA). W sercach o masie ponad 600 g zawartość DNA 16c występuje w 16% mierzonych komórek, 10% komórek posiada 4c, występuje także 5% komórek o zawartości DNA 32c. W sercach o największej masie, najwyższy odsetek stanowiły jądra z 8c i 16c zawartością DNA; nie występowały jądra z zawartością 32c DNA.

Vliegen i współpracownicy (1986, 1991) wykazali zmiany w mięśniu sercowym pod wpływem przeciążenia pracą serca, wzrostu ciśnienia krwi. Zmiany te polegały na podwojeniu ciężaru serc, co było rezultatem zwiększenia średniej objętości miocytów (hypertrofia) i liczby ich jąder oraz przyrostu tkanki łącznej. Towarzyszyło temu zwiększenie zawartości DNA w jądrach kariocytów. Stopień poliploidyzacji był określany zawartością DNA mierzoną za pomocą cytofotometrii przepływowowej.

Zmiany w normalnych i przeroślonych sercach ludzkich w zakresie zawartości DNA — pojedynczych jąder dla wyjaśnienia mechanizmu poliploidyzacji były badane przez Pfitzera (1971). Stwierdził on metodą cytofotometryczną, że zawartość DNA jąder normalnego mięśnia sercowego dorosłego człowieka oka-

zuje wartości 2:4:8:16:32 odpowiadające postępowi geometrycznemu poliploidii. Lewa komora wykazuje większy odsetek jąder z wysoką poliploidyzacją w przeciwieństwie do prawej komory serca. Badania tegoż autora wykazują, że poliploidia wzrasta w przerosłych częściach serca, przy czym przesunięcie do wyższej klasy ploidii DNA jąder komórkowych zależy od intensywności i czasu trwania stresu, a także różnic indywidualnych w odpowiedzi na stres. W przerosłych sercach wartości DNA poliploidii nie odpowiadają postępowi geometrycznemu.

Poliploidalne jądra były także stwierdzone u dzieci, które urodziły się z wadami serca, aorty i tętnicy płucnej. Astorri i współpracownicy (1977) przeprowadzili badania 42 lewych komór — normalnych i przerosłych serc ludzkich — połączone z analizą komputerową — stwierdzając współzależność wielkości komórek mięśnia sercowego i masy ściany komorowej aż do masy krytycznej 250 g. Powyżej tej masy hyperlazja komórkowa była ewidentna i następowała przez dalszy wzrost masy komórkowej. W przeciwstawieniu do tego, samo zjawisko fizjo-patologiczne nie było zależne od długości komórki. Długość komórki mięśnia sercowego wykazuje stały stopniowy wzrost bez względu na masę komorową.

Badania cytometryczne dotyczące zawartości DNA w normalnych i przerosłych sercach ludzkich, przeprowadzane przez K o m p m a n n a i współpracowników (1966) wykazały, że istnieje korelacja pomiędzy szerokością włókna a zawartością DNA. Stopień ploidii w obrębie danego serca wzrastał ze wzrostem szerokości włókna. Autorzy ci stwierdzali jednak dużą zmienność w wartościach pomiędzy indywidualnymi sercami, szczególnie wśród serc przerosłych o różnych masach, gdzie występowały włókna wielojądrowe. Uważają oni, że poliploidyzacja prawdopodobnie przedstawia jądrową odpowiedź dla wzmożonych wymagań funkcjonalnych. Funkcjonalny i zależny od wieku wzrost ploidii jąder komórkowych występuje z reguły w ludzkim mięśniu sercowym. Zmiana w zawartości DNA jest zawsze skojarzona ze zmianą w liczbie jąder komórkowych.

Sandritter i Adler (1971, 1972) próbowali określić, jaki jest mechanizm przerostu serca. Czy w przerosłych sercach ludzkich i w narządach z poliploidalnymi jądrami istnieje wzrost liczby komórek (mięśnia sercowego), czy też powiększenie mięśnia sercowego i całych narządów mięsnych jest wynikiem powiększenia pojedynczych włókien. Autorzy ci zastosowali kombinowaną metodę określenia względnej liczby komórek przez liczenie w preparatach histologicznych — z zastosowaniem przelicznika odnoszącego się do średniej wielkości komórki, pojemności albo masy całkowitego narządu i oznaczenie biochemiczne zawartości DNA pojedynczych jąder metodą cytofotometryczną. Wyniki ich badań wykazały, że w normalnych sercach ludzkich o masie około 300 g istnieje 2×10^9 komórek mięśniowych, podczas gdy w mocno przerosniętych ludzkich sercach (720–900 g) jest 4×10^9 tych komórek. Z rozdziału stopni ploidii jąder komórek parenchymalnych otrzymali oni odsetkowe wartości proporcji zestawów chromosomalnej diploidii w genomach. Zawartość DNA w genomie (= diploidalny zestaw chromosomalny) wynosi 6×10^{-12} g DNA. Ze wzrostem hypertrofii serca (530–980 g)

liczba jąder komórkowych włókien mięśniowych z oktoploidalną zawartością DNA (8c) wzrasta od 31%–82%. W sercach o masie powyżej 600 g zawartość DNA podwaja się (16c) i to w zakresie 16%–33%. Występują nawet — w małym odsetku — jądra z zawartością 32c DNA. Stymulacja funkcji komórki (wzrost masy suchej) powoduje endomitotyczną poliploidyzację zawartości DNA (od 4c do 8c). Poliploidyzacja zaczyna się wraz ze wzrostem masy serca. Określenie masy wskazuje, że może występować wzrost liczby włókien; stąd podwojenie zawartości DNA od 8c–12c mogło odnosić się do przed amitotycznej syntezy DNA (Sandritter i Scomazzoni 1964).

Takamatsu i współpracownicy (1983) określili cytofluorometrycznie zawartość jądrowego DNA w sercach ludzkich w czterech grupach wiekowych: u dzieci, młodzieży, dorosłych i w okresie starzenia się. Stwierdzali, że fizjologicznie poliploidyzacja występuje proporcjonalnie do ciężaru serca. W grupie dzieci do około 1 roku życia i 45 g masy serca: 94,3% jąder zawierało diploidalną ilość DNA. W wieku od 1–9 lat przy masie serca 45–120 g 13,6% jąder zawierało tetraploidalną ilość DNA. W wieku między 9 a 22 rokiem życia (masa serca 120–320 g) liczba tetraploidalnych jąder zwiększała się, a także pojawiały się pojedyncze jądra oktoploidalne. Natomiast w wieku 22–75 lat przy masie serca 215–320 g liczba jąder z diploidalną zawartością DNA była stosunkowo stała i dotyczyła około 62% jąder, zaś liczba jąder z tetraploidalną i oktoploidalną zawartością wzrastała i wynosiła 31,4% dla pierwszych (4c) i 5,8% dla drugich (8c).

Autorzy ci stwierdzili, że częstość występowania poliploidalnych jąder w ludzkim sercu była nie tak wysoka jak to podano w ich badaniach poprzednich. Zmiany w zawartości DNA jąder komórek mięśnia sercowego ludzkiego były badane w materiale autopsyjnym w 24 godz. po śmierci. Badania te wykonywano na materiale przechowywanym w specjalnych warunkach oraz metodami przez nich opisanymi z uwzględnieniem autolizy (przechowywanie w temp. +4°C, głębokie mrożenie przy –20°C, utrwalanie w płynie Carnoy. Badania przeprowadzono na próbkach pobranych z lewej i prawej komory serca, a także na tkance świeżej). Otrzymane wyniki badań wykazały, że — niezależnie od metody przygotowywania — biochemicznie określona zawartość DNA jąder pozostaje na tym samym poziomie w ciągu 72 godz. Wartości otrzymane biochemicznie i cytofotometrycznie są porównywalne; 96%–99% jąder komórek mięśnia sercowego wykazywała diploidalną zawartość DNA. Stwierdzili oni, że istnieje korelacja pomiędzy zawartością DNA a objętością jądrową.

ENDOPOLIPLIIDIA

Wraz ze wzrostem zawartości DNA następuje wzrost objętości jądrowej (Adler i Beckhove 1971, Adler i Friedburg 1986). Wyniki badań (Nagl

1976) świadczą o stosunku wzajemnym pomiędzy podstawową zawartością jądrową DNA a występowaniem i stopniem endopoliploidii.

Im niższa podstawowa zawartość (2c) jądrowa DNA danego gatunku, tym wyższe prawdopodobieństwo, że endopoliploidia albo politeniczne jądra są rozwinięte w pewnych komórkach o tkankowo specyficznym wzorze endopoliploidii i politenii. Komórki wykazujące najwyższe poziomy są tymi, które przyjęły najaktywniejsze wyspecjalizowanie, jak gruczoły ślinowe larw owadów, trofoblasty zarodków ssaków i podobne. Poliploidia była również stwierdzona w gruczołach ślinowych *Melipona quadri fasciata anthidioides* Lep. przez określenie objętości jądrowych i zawartości DNA. Zawartość DNA i objętość jądrowa wzrastają aż do trzeciego stadium rozwoju larwalnego. Po tym okresie zawartość DNA pozostaje stała aż do stadium poczwarkowego, lecz objętość jądrowa wzrasta do piątego stadium rozwoju larwalnego. Wtedy obniża się lekko pomiędzy piątym a przedpoczwarkowym stadium. Wzrost zawartości DNA do trzeciego stadium wynika prawdopodobnie z tego, że gruczoł kończy swe dojrzewanie a zaczyna wydzielanie w tym stadium. Natomiast spadek rozmiarów i objętości jądrowych podczas stadium przedpoczwarkowego jest konsekwencją rozpoczęcia gruczołowej degeneracji (Cruz-Landim i Mello 1969).

Różnicowanie i wyspecjalizowana funkcja pewnych komórek potrzebuje określonej masy DNA dla utrzymania ich regulacyjnego i funkcjonalnego stanu. Niezbędna zawartość DNA była osiągnięta przez : 1) duplikację sekwencji DNA prowadzącą do wzrostu nieinformacyjnego DNA lub 2) generatywną poliploidię albo tandemowe uporządkowanie zestawów poliploidalnych chromosomowych — prowadząc do większych chromosomów o stałej liczbie.

Badania dotyczące syntezy DNA w rozwoju mięśnia sercowego, jak i w przeroście eksperymentalnym serc u zwierząt, były prowadzone między innymi przez Chacko (1973), Morkina i współpracowników (1969).

POLIPLOIDIA A ZJAWISKA EWOLUCJI

W 1956 r. ukazały się materiały z konferencji zorganizowanej przez Zespół Genetyczny Komisji Ewolucjonizmu PAN i Zakład Hodowli Roślin PAN o *Roli poliploidów w naturze i hodowli roślin* (nakładem Państwowego Wydawnictwa Rolniczego i Leśnego). W opublikowanym referacie Gajewski stwierdza na temat roli poliploidalności w ewolucji roślin, że a) wyższość stanu diploidalnego nad haploidalnym polega przede wszystkim na zdolności wytwarzania nowych kombinacji genowych umożliwiających przystosowanie się — konieczne w ewolucji oraz b) najistotniejsza w ewolucji roślin była poliploidyzacja haplofazy w diplofazę, przy czym samo podwojenie liczby chromosomów nie jest czynnikiem ewolucyjnie twórczym, lecz jego konsekwencje genetyczne. Pierwszą konsekwencją stanu diploidalnego jest zjawisko dominowania czy recesywności genów. W organizmie haploidalnym każda mutacja musi się zaraz objawić fenotypowo,

gdy natomiast w diploidalnym, o ile występuje w stanie heterozygotycznym, może istnieć najpierw w stanie recesywnym nie ujawniając się fenotypowo. Toteż w organizmie haploidalnym, o ile zajdzie mutacja w jakimkolwiek stopniu selektywnie ujemna, będzie ona zaraz eliminowana przez dobór naturalny, skoro musi się natychmiast ujawnić fenotypowo. Natomiast w organizmie diploidalnym, gdzie zwykle mutacje powstają u heterozygotów — w danych warunkach selektywnie ujemne mutacje — nie będą przez dobór naturalny eliminowane natychmiast, bowiem selekcja odbywa się w stosunku do fenotypów a nie genotypów.

Ogólnie biorąc, zmiany w wymiarach i kształtach komórek i narządów, czy też w ich właściwościach fizjologicznych, powstałe na skutek podwojenia liczby chromosomów, są znacznie mniejsze niż istniejące w gatunkach zróżnicowanie genetyczne w postaci ras, ekotypów czy podgatunków. Główną konsekwencją genetyczną autopoliploidalności jest wzrost w populacji osobników heterozygotycznych, a to ze względu na mniejsze szanse spotkania się w zygocie 4 takich samych allelomorfów, a zarazem stworzenie kompletnej bariery izolacyjnej w stosunku do wyjściowego gatunku diploidalnego.

W tym samym zbiorze prac Kaufman przedstawia poliploidalność u zwierząt — stwierdzając, iż *a priori* można się spodziewać, że poliploidalność ograniczy się tu do grup obojnaczych i partenogenetycznych. Autorka przytacza także ciekawe spostrzeżenia Sachsa poczynione nad chomikami. U *Cricetus griseus* oraz u *Cricetus cricetus* występuje liczba $2n = 24$ chromosomów. Natomiast u chomika złotego *Mesocricetus auratus* — $2n = 44$ chromosomy. Dwie pierwsze formy mają po 8 sutek, a forma poliploidalna 14 do 22. *Mesocricetus* jest formą późniejszą i występuje w erze współczesnej, gdy tymczasem *Cricetus* był już w pleistocenie, o czym świadczą dane paleontologiczne. Zastanawiając się nad tym, jak mogły powstać poliploidalne chomiki Darlington dochodzi do wniosku, że mogło to nastąpić — podobnie jak to się zdarza u roślin — przez częste tworzenie niepłodnych mieszańców, u których żywotne komórki rozrodcze mogły powstać tylko wskutek niewystępowania pierwszego lub drugiego podziału mejotycznego.

Chociaż na ogół panuje przekonanie, że u zwierząt poliploidalność jest zjawiskiem bardzo rzadkim, to jednak według Frankhausera (1945) udawało się sztucznie wywołać uwielokrotnienie liczby chromosomów u wielu zwierząt działaniem nadmiernie niskiej lub wysokiej temperatury.

UWAGI OGÓLNE

Uwzględniając różne aspekty zjawiska poliploidii — występującego zarówno u roślin, jak i zwierząt — należy zauważyć, że rozmaite czynniki natury chemicznej i fizycznej mogą wpływać na zmiany w podziałach kariokinetycznych. Obok najbardziej rozpowszechnionej i najskuteczniejszej w hodowli roślin kolchicyny, od której wywodzi się nazwa substancji c-mitotycznych wykryto wiele innych substancji o podobnym działaniu. Mechanizm działania kolchicyny polega, jak

wiadomo, na zaburzeniach w procesach mitozy, które zaczynają się od tego, że w czasie profazy chromosomy ulegają silniejszej niż zwykle spiralizacji, a w metafazie — zamiast układać się w płaszczyźnie podziałowej — są bezładnie rozrzucone w całej cytoplazmie wykazując częściową lub zupełną dezorganizację wrzeciona podziałowego.

Oprócz czynników natury chemicznej, zwłaszcza w ustrojach zwierzęcych, stwierdzono wpływ na powstawanie poliploidalności czynników fizycznych, takich jak znaczne zmiany temperatury lub energia promienista.

Stany zaburzeń w czynności układu krążenia krwi mogą wywoływać, obok innych następstw, także zjawiska poliploidii w kardiocytach. U podłoża tych zjawisk tkwią niewątpliwie procesy fizjopatologiczne związane z pokonywaniem pewnego, czasem nadmiernego „wysiłku” czynnościowego przez komórki mięśnia sercowego (które wg dawniejszego poglądu tworzyły syncytium komórkowe). Ten zaś nadmierny „wysiłek” może być połączony z procesami biochemicznymi, dokonywanymi jak gdyby w pośpiechu, a więc nie doprowadzonymi do pełnego zakończenia określonego cyklu przemian chemicznych, wskutek czego mogą tu wytwarzać się produkty w swym działaniu podobne do działania c-mitotycznego kolchicyny. Nie można tu wykluczyć także wpływu pewnych leków, które przecież osoby z chorobami układu krążenia pobierają w niemałych dawkach.

Poliploidia jąder kardiocytów nie jest związana tylko ze zjawiskami stojącymi na pograniczu patologii lub wręcz patologicznymi, takimi jak: starzenie się komórek, przeciążenie i przerost mięśnia sercowego. Albowiem zwiększenie ilości DNA pojawia się w sercach ssaków już w pierwszych tygodniach życia postnatalnego. Jest to prawdopodobnie związane z procesami przebudowy serca zależnymi od zmiany krążenia po urodzeniu oraz rozwoju tkanki (mięśniowej).

Zjawisko poliploidii w mięśniu sercowym rzadko bywa omawiane w piśmiennictwie naukowym. W pracach dotyczących patomorfologii serca (*Patomorfologia serca* 1990) można nie znaleźć o nim żadnej wzmianki, chociaż zawierają one wyodrębnione części dotyczące budowy histologicznej mięśnia sercowego, i to powiązane z obrazami uzyskanymi nie tylko w mikroskopii świetlnej, ale i elektronowej (transmisyjnej). Z tego też (między innymi) powodu sądzimy, iż niniejsze nasze opracowanie tego tematu zasługuje na uwagę.

W każdym razie zawartość DNA w komórkach mięśnia sercowego zależy od wieku i czynności, poniekąd nasilonej, serca. Do 12 roku życia przeważają jądra diploidalne (2c). U dorosłych występują jądra tetraploidalne (4c). Wraz ze wzrostem masy serca — w powiązaniu z przerostem miokardium — poliploidalność wzrasta tak, że zawartość DNA sięga 8c do 32c. Manifestuje się to powiększeniem jąder komórkowych oraz ich hyperchromatycznością (co można wykazać reakcją Fuelgena na DNA).

Tak więc poliploidia — ogólnie biorąc — stanowi pewien wyraz przystosowania się komórkowego do zmieniających się warunków egzystencji. Dotyczy to nie tylko komórek mięśnia sercowego, ale i innych narządów, na przykład wątroby

w organizmie ludzkim, a także w zwierzęcych. Można to także odnieść w pewnym sensie również do świata roślin — w znaczeniu ogólnej biologii.

POLYPOIDY IN HUMAN HEART MUSCLE AND SIMILAR PHENOMENA IN SOME LIVING ORGANISMS

Summary

Endomitotic polyploidy, both in the animal and in the plant world, is specific for some organs, tissues and cells. Its functional significance is not exactly known, but its appearance is not accidental.

The DNA content of human heart muscle cells depends on the cardiac function and on the age of the individual. In adults, tetraploid nuclei (4c) predominate whereas diploid nuclei (2c) predominate up to the 12-th year of life.

With increasing cardiac load, polyploidy increases (DNA content: 8c to 32c) in relation to myocardial hypertrophy. Morphologically, this is manifested by the presence of enlarged and hyperchromatic nuclei.

The role of polyploidy in many phenomena involved in evolution, both among animals and plants, is discussed.

LITERATURA

- Adler C. P., Beckhove Ph., 1971. *Post-mortem DNA changes in heart muscle*. Beitr. Path. 142, 306–320.
- Adler C. P., Friedburg H., 1986. *Myocardial DNA content, Ploidy level and cell number in geriatric hearts: Post-mortem examinations of human myocardium in old age*. J. Mol. Cell Cardiol. 18, 39–53.
- Adler C. P., Sandritter W., 1971. *Numerische Hyperplasie der Herzmuskelzellen bei Herzhypertrophie*. Dtsch. Med. Wschr. 48, 1895–1897.
- Astorri E., Bolognesi R., Colla B., Chizzola A., Visioli O., 1977. *Left ventricular hypertrophy: A cytometric study on 42 human hearts*. J. Mol. Cell Cardiol. 9, 763–775.
- Berendes H. D., Keyl H. G., 1967. *Distribution of DNA in heterochromatin and euchromatin of polytene nuclei of Drosophila hydei*. Genetics 57, 1–13.
- Brodsky V., Uryvaeva J. V., 1974. *Somatic polyploidy in tissue development*. Ontogenesis 5, 6, 594–605 (in Russian).
- Barlogie B., Göhde W., Johnston D. A., Smallwood L., Schumann J., Drewinko B., Freireich E. J., 1978. *Determination of ploidy and proliferative characteristics of human solid tumors by pulse cytophotometry*. Cancer Research 38, 3333–3339.
- Chacko S., 1973. *DNA Synthesis, mitosis and differentiation in cardiac myogenesis*. Developmental Biology 35, 1–18.
- Cruz-Landim C., Mello M. L. S., 1969. *Development of polyploidy in silk glands of Melipona quadrfasciata anthidioides Lep. (Hym. Apoidea) during the larval stage*. J. Exp. Zool. 170, 149–156.
- Czerniak B., Eppich E. M., Gorczyca W., Herz F., Koss L. G., 1988. *Cytometryczne pomiary ploiddii DNA w rakach jelita grubego*. Pat. Pol. XXXIX: 1, 1–12.
- Czerniak B., Koss L. G., Sherman A., 1984. *Nuclear pores and DNA ploidy in human bladder carcinomas*. Cancer Research 44, 3752–3756.
- Eisenstein R., Wied G. L., 1970. *Myocardial DNA and protein in maturing and hypertrophied human hearts*. Proceeding Soc. Exp. Biol. and Medicine. 133, 1, 176–179.

- Frabkhauser G., 1945. *The effects of changes in chromosome numbers on amphibian development*. Quart. Review of Biol. 20, 20–78.
- Gajewski W., 1955. *Endomitoza*. Kosmos ser. A, 5, 682–690.
- Kompmann M., Paddags I., Sandritter W., 1966. *Feulgen cytophotometric DNA determinations on human hearts*. Arch. Path. 82, 303–308.
- Kruś S. (red.), 1990. *Patomorfologia serca*. PZWL. Warszawa.
- Krygier-Stojałowska A., Zwierzykowska A., Rakowska-Plusser M., Uraśiński J., Osipowicz E., Gapski Z., Woźniak B., 1986. *DNA aneuploidy in cells of acute leukemia non B non T type in children*. Folia Histochem. et Cytobiol. 24, 213–226.
- Levi P. E., Cooper E. H., Phil D., Anderson C. K., Path M., Williams R. E., 1969. *Analyses of DNA content, nuclear size and cell proliferation of transitional carcinoma*. Cancer 21, 1074–1085.
- Look A. T., Melvin S. L., Williams D. L., Brodeur G. M., Dahl G. V., Kalvinsky D. K., Murphy S. B., Mauer A. M., 1982. *Aneuploidy and percentage of S-phase cells determined by flow cytometry correlate with cell phenotype in childhood acute leukemia*. Blood 60, 959–967.
- Mittwoch U., Delhanty J:D. A., 1972. *Inhibition of mitosis in human triploid cells*. Nature New Biology 238, 5, 11–13.
- Morkin E., Ashford. T. P., 1968. *Myocardial DNA Synthesis in experimental cardiac hypertrophy*. Am. J. Physiol. 215, 6, 1409–1413.
- Nagl W., 1976. *DNA endoreduplication and polyteny understood as evolutionary strategies*. Nature 261, June 17, 614–615.
- Pajares J. L., Delicado A., Bustamante A. D., Pellicer A., Pinel J., Pardo M., Martin M., 1990. *Tetraploidy in a liveborn infant*. J. Med. Genet. 27, 782–783.
- Pfitzer P., 1971. *Nuclear DNA content of human myocardial cells*. Curr. Top. Pathol. 54, 125–168.
- Rumyantsev P. P., 1966. *Autoradiographic study on the synthesis of DNA, RNA and proteins in normal cardiac muscle cells and those Changed by experimental injury*. Folia Histochem. et Cytochem. 4, 4, 397–424.
- Sandritter W., Adler C. P., 1972. *A method for determining cell number on organs with polyploid cell nuclei*. Beitr. Path. 146, 99–103.
- Sandritter W., 1973. *Die Zytophotometrie in der Zytologie (Referat)*. Verh. Dtsch. Ges. Path. 57, 42–52.
- Sandritter W., Scomazzoni G., 1964. *Deoxyribonucleic Acid content (Feulgen photometry) and dry weight (interference microscopy) of normal and hypertrophic heart muscle fibres*. Nature 4, 202, 100–101.
- Sandritter W., Adler C. P., 1971. *Numerical hyperplasia in human heart hypertrophy*. Experientia 27, 12, 1435.
- Schifferdecker P., 1916. *Untersuchen des menschlichen Herzens in verschiedenen Lebensaltern in Bezug auf die Grossenverhältnisse der Fasern und Kerne*. Pflügers Arch. Ges. Physiol. 165, 449–564.
- Swanson C. P., Merz T., Young W. J., 1970. *Cytogenetyka*. PWN. Warszawa.
- Takamatsu T., Nakanishi K., Fukuda M., Fujita S., 1983. *Cytofluorometric nuclear DNA-determinations in infant, adolescent, adult and aging human hearts*. Histochemistry 77, 485–494.
- Tribukait B., Gustafson H., Esposti P., 1979. *Ploidy and proliferation in human bladder tumors as measured by flow-cytofluorometric DNA-analysis and its relations to histopathology and cytology*. Am. Cancer Soc. 43, 5, 1742–1751.
- Vliegen H. W., Vossepoel A. M., vanderLaarse A., Eulderink F., Cornelisse C. J., 1986. *Methodological aspects of flow cytometric analysis of DNA polyploidy in human heart tissue*. Histochemistry 4–6, 8, 348–354.

- Vliegen H. W., van der Laarse A., Cornelisse C. J., Eulderink F., 1991. *Myocardial changes in pressure overload — induced left ventricular hypertrophy. A study on tissue composition, polyploidization and multinucleation.* Eur. Heart Journal 12, 488–494.
- Zak R., 1973. *Cell proliferation during cardiac growth.* Am. J. Cardiol. 31, 211–219.