

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
КРИМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ім. С.І. ГЕОРГІЄВСЬКОГО**

КУПША ОЛЕНА ІВАНІВНА

УДК 611-018:591.436.2:576.3/7:546.815:615.356:616-092.4

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ В ПЕЧІНЦІ МИШЕЙ
ПРИ ТРИВАЛОМУ НАДХОДЖЕННІ В ОРГАНІЗМ
МАЛИХ ДОЗ СВИНЦЮ І ВПЛИВ НА НИХ
АЛЬФА-ТОКОФЕРОЛУ ТА ЕРБІСОЛУ
(експериментальне дослідження)**

14.03.09 – гістологія, цитологія, ембріологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Сімферополь – 2010

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Кримському державному медичному університеті ім. С.І. Георгієвського МОЗ України, м. Сімферополь.

- Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор **Грабовий Олександр Миколайович**, Національний інститут рака, завідувач відділу патологічної анатомії.
- Офіційні опоненти:** доктор біологічних наук, професор **Волков Костянтин Степанович**, Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України, завідувач кафедри гістології, цитології та ембріології;
- доктор медичних наук, професор **Барсуков Микола Петрович**, Південний філіал “Кримського агротехнологічного університету” Національного університету біоресурсів і природокористування України, завідувач кафедри охорони праці і БЖД з курсом гістології та радіобіології.

Захист дисертації відбудеться “_7_”_квітня_2010 року о_14.00_годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 52.600.02 при Кримському державному медичному університеті ім. С.І. Георгієвського МОЗ України (95006, Україна, АР Крим, м. Сімферополь, бульвар Леніна 5/7).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Кримського державного медичного університету ім. С.І. Георгієвського МОЗ України (95006, Україна, АР Крим, м. Сімферополь, бульвар Леніна, 5/7).

Автореферат розісланий “_5_”_березня_2010 року.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

Г.О. Мороз

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Відомо, що щорічний викид в оточуюче середовище поллютантів в Україні складає 17 млн. т. в рік, що відповідає умовному навантаженню 300 кг на 1 жителя. Значний внесок у розвиток синдрому антропологічної напруги і формування екозалежної патології популяції вносить свинець. Тільки в Донецькому та Дніпропетровському регіонах виділяють 13 екокризових районів (В.С. Джигирей та ін., 2004).

Для запобігання наслідків дії ксенобіотиків на організм людини, практично у всіх країнах створені національні програми по моніторингу за станом навколишнього середовища (Б.А. Курляндский, 2001). Ксенобіотики будучи механізмом тригера в розвитку захворювань екзохімічної природи, також сприяють хронизації основного захворювання і скороченню періодів ремісії, що збільшує ступінь інвалідизації (А.П. Авцын та ін., 1991; Н.Г. Проданчук., Е.Л. Левицкий, 2001; В.В. Сікора, 2006; В.В. Міщенко та ін., 2006) Дані літератури однозначно свідчать про ураження печінки, як головного органу детоксикації при свинцевій інтервенції (О.І. Дельцова та ін., 2002; Г.І. Мардар та ін., 2006). Вже доведено і багато разів підтверджено експериментально, а також даними еколого-гігієнічних наглядів, що тривале надходження субтоксичних доз свинцю в організм жителів екокризових регіонів приводить до розвитку системної патології, в основі якої лежить ефект оксидативного стресу (Н.Т. Музичук, 2001). При цьому порушуються параметри гомеостазу багатьох систем організму – нервової, ендокринної, репродуктивної, а також печінки (В.Ю. Шанин, 2003).

Справедливість і правомочність такого комплексного міждисциплінарного підходу до дослідження механізмів і пояснення терапевтичних ефектів корекції гепатопаренхіматозної та гепатоваскулярної патології базується на сучасному розумінні ролі тканинних систем печінки, які взаємозалежно жорстко і паралельно досить лабільно інтегровані у функціонуванні екстрагепатичних моно- і поліорганних систем (А.Ш. Зайчик, Л.П. Чурилов, 2002).

У свою чергу, декомпенсація в системах паренхіматозних і непаренхіматозних клітин, печінкових судин, обумовлена первинною поразкою тканин органу (вірусний, лікарський, токсичний гепатити, біліарний цироз) є механізмом тригера, що запускає патологічні процеси в залежних від печінки органних системах, що клінічно маніфестують у формі вітальних несприятливих синдромів (Ш. Шерлок, Дж. Дули, 1999; Н.Н. Зайко, Ю.В. Биця, 2004).

Враховуючи вищевикладене, реалії теперішнього часу вимагають аналізувати і трактувати захворювання, патологічні стани і процеси в печінці з позицій мультисистемного підходу, що базується на розумінні того, що деструктивні, компенсаторно-адаптивні, захисні і репаративні процеси розгортаються не точково в одному органі, але у всьому організмі, як єдиному цілому. Таким чином, вивчення морфофункціональних проявів компенсаторно-приспосовних процесів в печінці, при вживанні вітчизняних препаратів, які мають антигіпоксанти, гепатопротекторні і імуномодулюючі ефекти в умовах тривалого надходження в організм малих доз свинцю, є актуальним.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана відповідно до плану наукових досліджень Кримського державного медичного університету ім. С.І. Георгієвського та є складовою частиною науково-дослідницької теми кафедри гістології, цитології та ембріології “Особливості пренатального і постнатального гісто- і органогенезу при типовій та атипій імплантації та під впливом медикаментозних препаратів”, шифр 03, № державної реєстрації – 0109U008095.

Мета дослідження. Встановити морфофункціональні прояви компенсаторно-приспосовувальних й альтеративних процесів у печінці білих мишей при тривалому надходженні в організм малих доз свинцю і їхню корекцію α -токоферолом і ербісолом.

Завдання дослідження:

1. Вивчити морфофункціональні зміни паренхіматозних і стромальних компонентів печінки при надходженні в організм малих доз свинцю.

2. Вивчити вплив α -токоферолу на характер і динаміку морфофункціональних змін паренхіматозних і стромальних компонентів печінки при надходженні в організм малих доз свинцю.

3. Вивчити вплив ербісолу на характер і динаміку морфофункціональних змін паренхіматозних і стромальних компонентів печінки при надходженні в організм малих доз свинцю.

Об'єкт дослідження: морфофункціональні зміни в печінці при тривалій дії малих доз свинцю і способи їх фармакологічної корекції.

Предмет дослідження: морфофункціональні прояви компенсаторно-приспосувальних й альтеративних процесів у печінці білих мишей другого покоління, які піддавалися дії малих доз ацетату свинцю, а також фармакотерапії α -токоферолом і ербісолом.

Методи дослідження: світлова мікроскопія парафінових, напівтонких зрізів печінки білих мишей, пофарбованих загальногістологічними й спеціальними барвниками, гісторадіоавтографія, трансмісійна електронна мікроскопія – для ідентифікації паренхіматозного, стромального й судинного компонентів печінкових часточок і виявлення в них морфологічних змін; морфометрія із застосуванням оптичного аналізатора зображення – для кількісної оцінки структурних змін у печінці; статистична обробка цифрових даних – для визначення вірогідності отриманих результатів.

Наукова новизна отриманих результатів. Уперше отримані дані про ступінь вираженості, динаміки та спрямованості компенсаторно-приспосувальних процесів на різних рівнях організації в складі паренхіматозного, судинного й стромального компонентів печінки мишей при тривалому надходженні в організм малих доз ацетату свинцю.

Уперше при аналізі морфофункціональних змін у печінці білих мишей був застосований підхід, що систематизує спостережувані параметри в якості складових багаторівневих компартментів печінки (молекулярному, надмолекулярному, органелл, клітинному, клітинних ліній, тканинному й ангіогісторегіонів), що виявило дискретність (умови зриву) адаптивних реакцій.

Уперше використання комплексного підходу, заснованого на застосуванні різних методик, дозволило співвіднести виявлені морфологічні маркери зі ступенем функціональної напруги печінки й, відповідно до цього, трактувати морфологічні основи структурних порушень як платформу для розгортання патологічного процесу.

Представлені результати дозволяють адекватно порівняти застосування, з метою фармакологічної корекції патологічного процесу, антиоксиданту першої лінії захисту – α -токоферолу та ербісолу, що володіє більшою мірою імунomodуючими властивостями, припускаючи вибір терапевтичного підходу.

Практичне значення отриманих результатів. Обрана експериментальна модель дозволяє обґрунтувати необхідність профілактичних і терапевтичних заходів, тому що доводить токсичні ефекти малих доз свинцю, порівняних з екологічно обумовленим надходженням в організм із навколишнього середовища, а також через плаценту й молоко матері.

Отримані дані є морфологічним підтвердженням можливості застосування α -токоферолу та ербісолу з метою фармакологічного коригування дистрофічних і деструктивних змін, які розгортаються в печінці при тривалій свинцевій інтоксикації. Результати проведеного експерименту можуть бути використані для розробки комплексних лікувальних і реабілітаційних заходів при потрапленні в організм сполук важких металів.

Основні положення і висновки дисертаційної роботи впроваджено у навчальний процес і науково-дослідну роботу кафедр: гістології, цитології та ембріології; медичної біології, паразитології та генетики державного медичного університету ім. С.І. Георгієвського; кафедри гістології, цитології та ембріології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця (м.Київ); кафедри гістології, цитології та ембріології Івано-Франківського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто проведено інформаційно-патентний пошук, проаналізована вітчизняна та іноземна наукова література за темою дисертаційної роботи. Разом з науковим керівником сформульовані мета і завдання дослідження, обговорені висновки. Дисертантом самостійно проведено забір матеріалу, виготовлення гістопрепаратів і їх фотографування, здійснено отриманого гістологічного і електронномікроскопічного матеріалу. Власноруч проведено комп'ютерний морфометричний аналіз з подальшою статистичною обробкою одержаних результатів та їх узагальненням, написані всі розділи дисертації.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи оприлюднені та обговорені на: 58-ій науково-практичній конференції студентів та молодих вчених Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця з міжнародною участю “Актуальні проблеми сучасної медицини” (Київ, 2003); 75-й межвуз. научно-практ. конф. студентів та молодих учених Крима “Теоретические и практические аспекты современной медицины” (Симферополь, 2003); першій всеукраїнській науковій конференції “Карповські читання” (Дніпропетровськ, 2004); симпозиуме “Биология опорно-двигательного аппарата” (морфо-функціональні і клініко-прикладні аспекти), (Сімферополь-Ялта, 2004); науково-практичній конференції “Гістологія на сучасному етапі розви-

тку науки” (Тернопіль, 2004); науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченої 200-річчю з дня заснування Харківського державного медичного університету “Від фундаментальних досліджень – до прогресу в медицині” (Харків, 2005); 77-й межвуз. научно-практ. конф. студентов и молодых ученых “Теоретические и практические аспекты современной медицины” (Симферополь, 2005); міжнародній науково-практичній конференції студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів “Сучасні проблеми клінічної та теоретичної медицини”, присвяченої Дню науки в Україні (Суми, 2005), 81-й международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых “Теоретические и практические аспекты современной медицины” (Симферополь, 2009), спільному засіданні кафедр гістології, цитології та ембріології, анатомії людини, топографічної анатомії та оперативної хірургії, медичної біології, паразитології та генетики державного медичного університету ім. С.І. Георгієвського (Симферополь, 2009).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 9 наукових праць, з них 5 статей у наукових виданнях, рекомендованих ВАК України, 4 тез у матеріалах конференцій і конгресів.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 264 сторінках комп’ютерного тексту і складається із вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, переліку використаних джерел. Робота ілюстрована 127 малюнками (123 мікрофотографії, 4 графіка) і 6 таблицями, які займають 28 сторінок. Перелік використаних джерел містить 266 найменувань, у тому числі 204 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріал і методи дослідження. Відповідно до поставленої мети й завдань, тривалу свинцеву інтоксикацію моделювали на 69 білих мишах-самцях лінії BALB/c, які представляли друге покоління тварин, що одержували щодня *regos* ацетат свинцю. Перше покоління тварин одержувало ацетат свинцю в дозі 10 мг/кг, з моменту припинення грудного вигодовування (з 30-ї доби життя). З огляду на дані сучасної літератури про надходження сполук свинцю в організм через гематоплацентарний бар’єр і з молоком матері (В.И. Смоляр, 1989), друге покоління одержувало ацетат свинцю, включаючи періоди гестації й лактації опосередковано через організм матері, а починаючи з 30-ї доби життя – перорально в дозі 10 мг/кг. Експериментальні тварини були розподілені на 4-х серії: 1-я серія – самці білих мишей другого покоління, яким, починаючи з 1-місячного віку, щодня *regos* вводили водяний розчин ацетату свинцю в дозі 10 мг/кг/доба протягом 30, 60 й 90 доби – 18 тварин; 2-а серія – самці білих мишей другого покоління, яким, починаючи з 1-місячного віку, щодня *regos* вводили ацетат свинцю в дозі 10 мг/кг/доба та масляний розчин альфатокоферолу ацетату в дозі 2 мг/кг протягом 30, 60 й 90 доби – 18 тварин; 3-я серія – самці білих мишей другого покоління, яким, починаючи з 1-місячного віку, щодня *regos* вводили водний розчин ацетату свинцю в дозі 10 мг/кг/доба, а також підшкірно, через день: для зменшення ступеня стресування тварин туберкуліновим шприцем вводили препарат «Ербісол» (науково-виробничий центр «ЭРБИС» м. Київ, реєстраційне посвідчення 94/136/1, №П.10.99/01051) у дозі 0,03 мг/кг, розведений в ізотонічному розчині натрію хлориду, протягом 30, 60 й 90 доби – 18 тварин; 4-я серія – контроль – білі миші, які, починаючи з 1-місячного віку, щодня *regos* одержували 0,9% розчин NaCl протягом 30, 60 й 90 доби – 15 тварин.

Піддослідних і контрольних мишей містили в однакових умовах віварію на збалансованому раціоні й при вільному доступі до води, з урахуванням рекомендацій И.П. Западнюк та ін. (1983). Експериментальні впливи у всіх групах і серіях проводилися паралельно. Маніпуляції з тваринами проводилися відповідно до положень “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, схвалених Першим Національним конгресом біоетики (Київ, 2001) і Доповнення 4 у виконанні “Правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин (Наказ МОЗ №755, 1977), що підтверджено Комітетом біоетики Кримського державного медичного університету ім. С.І. Георгієвського (протокол № 7 від 02.11.2007 р.).

Дотримуючись гуманних принципів поводження із тваринами, їх виводили з експерименту під легким ефірним наркозом шляхом декапітації. Печінку піддослідних і контрольних мишей другого покоління досліджували через 30, 60 і 90 діб від початку проведення експерименту впливів. Для одержання порівняних результатів із застосуванням методу гісторадіоавтографії експеримент завершували в той самий час доби – 12 година дня. За 1 годину до взяття матеріалу тварині

внутрішньом'язово вводили мічений попередник ДНК-³H-тимидин у дозі 6,5 мкКи/г (О.Т. Епифанова, 1977). Для електронномікроскопічного дослідження забирали ліву частку печінки, частину якої відразу після заборув розсікали в краплі 2,5% глютаральдегіду. Дофіксацію проводили в 1% розчині Os₄ на фосфатному буфері (рН 7,4). Подальшу обробку з метою висновку в епон-аралдит проводили по загальноприйнятим в електронній мікроскопії методикам. Іншу частину частки печінки поміщали в 10% нейтральний формалін.

Гістологічні методи дослідження. Шматочки печінки фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, заливали в парафін і целлоїдин. Для оглядової оцінки основних структурних компонентів печінки парафінові зрізи товщиною 5 мкм і целоїдинові зрізи товщиною 10 мкм фарбували гематоксиліном Карацці й еозином. Компоненти сполучної тканини строми й судин виявляли фарбуванням пікрофуксином за Ван-Гізеном. Напівтонкі зрізи фарбували 1% спиртовим розчином толуїдинового синього.

Гістохімічні методи дослідження. Еластичні волокна у складі стінки судин виявляли за допомогою фарбування альдегідом-фуксином. Включення ліпідів виявляли фарбуванням OsO₄ у напівтонких зрізах.

Гісторадіоавтографія. Метод застосований з метою встановлення активності синтезу ДНК клітинами паренхіми й строми печінки. Напівтонкі зрізи товщиною 1 мкм накривали фотоемульсією – М (розведення 1:3), експозиція становила 14 днів. Після фіксації й прояву зрізи фарбували 1% спиртовим розчином толуїдинового синього. Гісторадіоавтографічну мітку (зерна срібла) підраховували під світловим мікроскопом (гліцерінова імерсія, збільшення 90x10x1,25). У препаратах підраховували число мічених і немічених клітин: окремо світлих і темних гепатоцитів (серед 2000 гепатоцитів від кожної тварини), навколосудинних клітин капілярів, з'єднувально-тканинних клітин. Обчислювали індекс мічених клітин (ІМК) для гепатоцитів, перисинусоїдальних клітин і клітин строми в проміле.

Трансмійна електронна мікроскопія. Виготовляли ультратонкі зрізи, які контрастували ацетатом свинцю і уранілацетатом. Перегляд ультратонких зрізів і фотографування проводили на електронному мікроскопі ПЭМ-100 (Україна). Аналіз ультраструктур клітин паренхіми й строми включав опис електронних мікрофотографій і морфометричну оцінку площ профільного зрізу ядра (з визначенням відсоткового відношення гетерохроматину), ядерець (з визначенням відсоткового відношення гранулярного компоненту), мітохондрій (з обчисленням щільності їх матриксу й розвитку крист).

Морфометрія із застосуванням оптичного аналізатора. Напівтонкі зрізи, зафарбовані толуїдиновим синім, вивчали для обчислень абсолютних показників: середня площа профільного перерізу судин мікроциркуляторного русла печіночних часточок, їхній діаметр (середній, максимальний і мінімальний), периметр судин, аналогічні показники ядер гепатоцитів. Також підраховували двоядерні гепатоцити. Визначали відсоток двоядерних гепатоцитів і клітин строми. Морфометричні дослідження проведені із застосуванням комплексної системи оптичного аналізатора зображення «OLIMPUS» (CX31) із цифровою фотокамерою (Olympus DIGITAL CAMERA C-5050 ZOOM), використанням програмного забезпечення «Видеотест-Морфологія» (Посвідчення про офіційну реєстрацію програми для ЕОМ №990537 від 27 липня 1997 р.) і стандартного пакета статистичних програм Excel-2003 (С.Н. Лапач та ін., 2000). На підставі підтвердження гіпотез про нормальність розподілу вірогідності випадкової величини у кожній з порівнюваних груп, а також рівності генеральних дисперсій у порівнюваних групах, був використаний t-критерій Ст'юдента. Достовірний вважали відмінності з досягненням рівня довірчої вірогідності P₁=0,95 і вище. Усі виміри й дослідження здійснювали на устаткуванні, що пройшло метрологічну перевірку та експертизу.

Результати дослідження та їх аналіз. При ізольованому застосуванні свинцю, у печінці білих мишей верифікуються ознаки структурного сліду адаптації, однак регенераторні й компенсаторно-приспосувальні реакції відрізняються слабкістю й незавершеністю. У динаміці виявляється перевага дистрофічних і деструктивних процесів, що супроводжуються нагромадженням ушкоджень компонентів печіночних часточок з формуванням структурного базису пре- або коморбідного фону.

На 30 добу експерименту реєструвалися інтралобулярні локальні некрози у 2-й зоні ацинуса, ланцюжка лімфоцитів у синусоїдних капілярах, великі перипортальні макрофагально-

лімфоцитарні інфільтрати, асоційовані зі стінками міжчасточкових вен. Відзначалася венозна гіперемія, сладжі еритроцитів, альтерація стінок міжчасточкових вен і артерій. У серії Pb60 спостерігалася збільшення площі некрозів паренхіми із захопленням усіх трьох зон ацинуса, поширенням їх через прикордонну пластинку та порталні тракти в сусідні часточки з формуванням мультилобулярних зливальних порто-центральної і порто-портальної ділянок омертвіння. При цьому зміни ядер і цитоплазми гепатоцитів в окремих локусах мали ознаки як коліквацийного (каріоцитолізіс), так і коагуляційного (каріопікноз, каріорексис, зменшення розмірів клітини) некрозів. Поряд з відзначеними змінами в системі припливу, виражені в серії Pb30, які зберігалися в серії Pb60, за 60 діб експерименту, також візуалізувалися диссеміновані сладжі в синусоїдних капілярах, явища стазу й гемолізу еритроцитів у просвіті центральної вени. У серії Pb90 некрози були в межах однієї часточки, альтерація стінок міжчасточкових судин прогресувала навіть до деструкції й геморагічного просочування паренхіми, а більша частина просвітів синусоїдних капілярів виглядала здавленою набряклими гепатоцитами.

Гепатоцити в складі печінкових пластинок були в вигляді мозаїцизму, що відбиває гетерогенність їхнього функціонального стану. Найбільшою мірою піддавалися ушкодженням світлі гепатоцити 1-ї зони ацинуса, що узгоджується з думкою деяких авторів про токсикокінетичні ефекти свинцю. Опосередковані свинцем критичні фактори клітинної альтерації викликають у гепатоцитах стійкі дистрофічні зміни у формі набрякання цитоплазми, множинної вакуольної, жирової і балонної дистрофії в серії Pb30. Остання, у серії Pb60, закономірно переходить в балонний цитолізіс гепатоцитів, що робить свій внесок у розвиток синдрому печінково-клітинної недостатності, а в серії Pb90, при практично повній відсутності пула темних гепатоцитів, клітини паренхіми піддаються патологічній гіпергідратації зі зникненням симптомів вакуольної і жирової дистрофії.

Аналіз ультраструктурних компонентів гепатоцитів, що утворюють функціонально провідну тканину печінки, виявив ряд морфологічних ознак, що свідчать про прямі й опосередковані токсичні ефекти свинцю. До стабільно верифікуємих ознак, ми відносили порушення цілісності мембран мітохондрій, порушення поверхневого апарату гепатоцитів, ознаки внутрішньоклітинного цитолізісу.

Нами відзначено, що в серії Pb30, плазмолема васкулярної поверхні гепатоцитів виявляє тенденцію до гіпертрофії мікрворсинок зі збереженими ультраструктурами, у той час, як латеральна поверхня характеризується порушенням щільних контактів і дисоціації клітин одна від іншої. Гіпертрофію мікрворсинок ми розглядаємо як адаптивно-компенсаторну реакцію на рівні мембранних супрамолекулярних комплексів, побічно підтверджуючи посилення генної експресії, задовільне функціонування органел і ферментних систем, що її реалізують. В умовах тривалої свинцевої інтоксикації в серіях Pb60-90, нами спостерігалася набрякання цитоплазми гепатоцитів із втратою латеральних контактів, у той час як васкулярна поверхня клітин втрачала мікрворсинки й згладжувалася. На світлооптичному рівні це візуалізувалося у вигляді дисконкомплексації печіночних балок серії Pb90, відриві гепатоцитів від сусідніх клітин і виходу їх у кровотік.

Напруженість реалізації репаративних процесів шляхом внутрішньоклітинної гіперплазії мітохондрій з метою забезпечення гепатоцитів енергодонаючими субстратами й недопущення органної недостатності діагностується наближенням морфометричного показника їхньої площі профільного поля в досвіді до контрольних значень у серії Pb30, навіть до незначного перевищення в серії Pb60. Обновленою популяцією мітохондрій характеризується гетерогенністю, включаючи варіабельність їхніх розмірів і форми, а також електронної щільності матриксу. У серії Pb90 нами реєструється значне зниження площі профільного поля мітохондрій, що становить тільки 15% від площі клітин, перевага мегамітохондрій з набряком матриксу, дисоціацією й зникненням крист, поява в матриксі електроннощільних включень і міжмембранного набряку. Таким чином, свинцевоіндукована патологія в системі мітохондрій гепатоцитів, свідчить, не тільки про наявну тканинну гіпоксію, але і про стан стабільного гіпоергозу.

Спрямованість адаптивно-компенсаторних процесів всередині гістогенетичного ряду гепатоцитів, у межах однієї часточки, модулюється факторами мікрооточення. Так, у серії Pb30, гепатоцити з великими ядрами належать до локусів некрозу, а ділянки локально дилатованих синусоїдних капілярів, контактують із малодиференційованими гепатоцитами.

У серії Pb60 виявляється феномен дисплазії ядер гепатоцитів з тенденцією до чисельної переваги гепатоцитів з невеликими за розмірами ядрами, зі збільшенням у них частки нетранскрибована-

ного гетерохроматину. Цікаво, що істотне й статистично достовірне збільшення відсоткового складу гетерохроматину асоціюється із критично низькими показниками площі профільного поля (практично в 3 рази) і периметру ядер, а також зі зниженням відсотка гранулярного компоненту ядерець. При цьому компенсаторної репаративної гіперплазії, гіпертрофії й дуплікації ядерець не спостерігається, що свідчить про наявність супресії в системі біосинтезу рРНК. У той же час, критично низькі (більш ніж в 2 рази нижче контрольних) морфометричні показники, що відбивають функціональну морфологію ядер гепатоцитів, на нашу думку, не можна пояснити тільки підвищеною швидкістю репаративного відновлення клітин паренхіми з домінуванням незрілих клітин зменшених розмірів, але також варто взяти до уваги недоліки трофогенних стимулів з непаренхіматозних клітин і міжклітинної речовини в умовах капіляротрофічної недостатності та обумовленим нею дефіцитом субстратів для пластичного обміну.

Виявлений нами комплекс морфометричних змін (зниження) показників розмірів ядер, зменшення частки транскрибованого еухроматину і зниження частки рибосомсинтезуючих локусів ядерець (гранулярного компоненту) у серії Pb60 дозволяють говорити про глибокі розлади в системі ядерного пластичного обміну й морфогенезу гепатоцитів.

У серії Pb90 відзначається спроба термінального диференціювання з результатом у поліплоїдію, що підтверджується морфометричними даними збільшення відсотку біноклеарних гепатоцитів і побічно по збільшенню діаметру ядер, однак, вона відрізняється недостатньою інтенсивністю: відсоток двоядерних гепатоцитів не досягає контрольних значень.

У серії Pb30 нами встановлена висока функціональна активність еухроматину, що в 3,5 рази активніше, ніж у контролі, включає ³H-тимідин як у світлих, так і у темних гепатоцитах, що підтверджує наше припущення про проходження регенераторних процесів. У серіях Pb60-90 відзначається прогредіентне зниження ІМК світлих гепатоцитів, що приймає найменші значення серед інших експериментальних груп. У той же час виявлення в серії Pb60 високої активності включення ³H-тимідину темними гепатоцитами, які в серії Pb90 практично повністю зникають, трактується нами як виснаження клітинного резерву темних і перемикання адаптивних процесів на популяцію світлих клітин паренхіми, з метою функціональної компенсації загиблих гепатоцитів. Зіставляючи отримані нами дані по збільшеному ІМК паренхіми з виявленим зниженим відсотком двоядерних гепатоцитів у серіях Pb30-90, правочинно зробити висновок, що ДНК-полімеразна активність включає результат у біноклеарність і має на меті інші можливі вектори: репарація, одноядерні поліплоїдні гепатоцити, мітотичний розподіл з метою компенсації дефіциту клітин внаслідок їхнього некрозу.

Досягнення корисного кінцевого адаптивного результату в системі ядерної функціональної морфології в серії з ізольованим застосуванням ацетату свинцю не відбувається. Однак на тлі супресивної, в цілому, дії ацетату свинцю на внутрішньоядерний метаболізм гепатоцитів (зменшення транскрипційної активності хроматину, рибосомсинтезуючої активності ядерець, зниження трьох показників діаметру, площі й периметру ядер) спостерігаються окремі ультраструктурні й морфофункціональні ознаки наявності структурного сліду адаптації в системах внутрішньоядерної спадкоємної інформації. Цей висновок дозволяють зробити результати аналізу стану каріолеми, а також відсоток площ ядерець і показники гісторадіоавтографії. У серії Pb60-90 нами відзначалося статистично достовірне збільшення частки ядерець, стосовно площі ядра, що свідчить про реакції компенсаторної гіпертрофії у відповідь на змінений метаболічний запит гепатоциту, обумовлений введенням ацетату свинцю.

Нами встановлені ключові фактори, індуковані 30-90- добовим введенням свинцю, що забезпечують патологічне зменшення кровоносних судин – фокальні внутрішньочасточкові некрози, руйнування міжчасточкових артерій і вен, а також ознаки мікроциркуляторної, гемічної і тканинної гіпоксії. Ці два патоморфологічний і патофізіологічний фактори – руйнування судин і дефіцит кисню, на нашу думку, є тригерними механізмами, що запускають очікуваний комплекс адаптивно-компенсаторних клітинних і тканинних реакцій у гісторегіонах печінки, не порушених некрозами і збереженою своєю мікроструктурою. Крім того, нами зафіксований вплив, що модулює, на внутрішньосинусоїдальний кровотік адгезованих до ендотелію лейкоцитів, що беруть участь у розвитку захисної запальної реакції.

Зафіксовані нами патоморфологічні маркери гемічної і циркуляторної гіпоксії припускали стимулюючий вплив дефіциту кисню на перебудову внутрішньодолькової васкуляризації за допо-

могою інтенсифікації ангиогенезу і відновлення таких параметрів синусоїдальних обмінних мікросудин, як середня площа поперечного перерізу капілярів і їхнього периметру. Ці морфометричні маркери розглядалися нами як побічні докази проявів очікуваного ангиогенезу в умовах свинецевообумовлених порушень гемореології, гемодинаміки, деструкції капілярів у вогнищах некрозу, а отже, патологічної редукції кількості синусоїдів. При цьому нами були зафіксовано вкрай несприятливе для внутрішньочасточкового кровотоку зниження практично в 2 рази в порівнянні з контролем показників площі профільного перерізу капілярів у серії Pb90. У серії Pb90, довгострокова пристосувальна відповідь з боку обмінних гемомікросудин не супроводжується очікуваним і необхідним збільшенням площі профільного поля й периметру синусоїдних капілярів, а також їхнього середнього діаметру. Ці 3 морфометричні показники залишаються практично в 2 рази нижче контрольних значень. Таким чином, у серії Pb90 спостерігається зрив у системі реалізації судинних довгострокових адаптивно-компенсаторних програм з результатом у редукцію обмінної ланки мікроциркуляторного русла, що, поряд з реєстрованими патоморфологічними ознаками гемічної й тканинної гіпоксії, безсумнівно, роблять свій внесок у патогенетичні механізми гіпоксичного некробіозу гепатоцитів. Зареєстровані нами явища набряку ендотеліоцитів, з наступною деструкцією, частоколоподібним вибуханням і злущуванням їх у просвіт судин, із втратою суцільної довжини моношару, простежуються в усіх серіях експерименту, виявляючи пряму кореляцію зі строками впливу, і можуть свідчити як про прямий мембранопошкоджуючий ефект свинцю, так і про ацидоз, що розгортається.

Захисні запальні реакції відрізняються слабкістю й незавершеністю, що простежується в усіх серіях експерименту з ізольованим введенням свинцю. Споконвічно локалізовані в порталних трактах лейкоцитарні інфільтрати, можливо, вносять свій внесок у посилення деструктивних процесів у стінках межчасточкових судин. Наростаючі розлади гемореології обмежують подальшу міграцію імуніцитів як просторову, так і тимчасову. Спостережувані стази еритроцитів у центральній вені підсилюють ацидоз тканин печіночних часточок і сприяють загибелі гепатоцитів. ІМК колагенсинтезуючих клітин приймає найбільш високі значення серед інших груп на 30-у й 90-у доби експерименту. Чисельне зростання клітин, що синтезують компоненти міжклітинної речовини, в серії Pb90 забезпечує здійснення репарації стінок міжчасточкових судин і волокнутворення усередині й навколо перипортальних вогнищ некрозу, виконуючи захисну розмежувальну функцію. У той же час, помірковано виражений інтерстиціальний фіброз, що має таку ж захисну спрямованість, виражений у серіях Pb60-90 і є скоріше проявом активації колагенсинтезуючих клітин або міофібробластів, що забезпечують нагромадження позаклітинної матриці.

В умовах сумісного з ацетатом свинцю застосування α -токоферолу пріоритетними клітинними мішенями для первинних токсичних ефектів, обумовлених інкорпорацією свинцю, а також опосередкованих ними деструктивних змін у печінці, як й у серії з ізольованим введенням свинцю, є гепатоцити, ендотеліоцити й еритроцити. Однак, ступінь вираженості некротичних процесів, у порівняльному аспекті, нижче, ніж у попередній серії, а на перший план виступають адаптивні дистрофічні й проліферативні реакції гепатоцитів і ендотеліоцитів, а також компенсаторні процеси стромального компоненту печінкових часточок, що включають активацію непаренхіматозних клітин.

У серіях E30-60 нами виявлені ознаки найкращої, у порівнянні з ізольованим введенням свинцю, схоронності внутрішньочасточкових структур. Мікротопографічна вибірковість незначних некротичних ушкоджень зачіпає частіше 1-у, рідше 3-у зону ацинусів. Гепатоцити в 1-й зоні ацинуса піддаються переважно середньо- і великокапельній жировій, а в 3-й зоні також помірної гідропічної дистрофії.

У серії E30 виражена запальна макрофагічно-лімфоцитарна інфільтрація, гіперпродукція основної речовини й волоконного компоненту з боку порталного тракту, де активну участь у відповідній реакції приймають гладкі міоцити стінки міжчасточкових судин і клітин фібробластичного диферону – високопластичних тканинних складових. Характерною рисою даної серії є реєструємий мотогенний ефект із одночасним включенням в еухроматин ядра міченого попередника ^3H -тимідину. У серіях E60-90 також відзначена гіперпродукція міжклітинної речовини, що дозволяє просунути адаптивно-компенсаторні реакції із клітинного рівня на тканинний. Такі відповідні реакції з боку тканинних компонентів печінки мишей, як гіперплазія клітинних елементів у стінці міжчасточкових судин, посилення продукції ними міжклітинної речовини, можна віднести до недос-

коналих, незавершених компенсаторно-адаптивних ефектів, як і спостережувані нами в серії E30. З одного боку, ця захисна реакція відмежовує експансію токсичних метаболітів у центральні ділянки гепатичних ацинусів, з іншого боку, – несе риси компенсаторної патології й служить морфологічним базисом можливого прогресування процесів фіброзу паренхіми. В цілому, з огляду на прогредієнтні кількісні показники колагенсинтезуючих непаренхіматозних клітин до 90-м доби, з одночасним зниженням ІМК до значень нижче контролю, а також, що виявляє стабільно гіперпродукцією, міжклітинної речовини, є правомочним зробити висновок про досягнення кінцевої точки їхньої активації – білоксинтетичної активності. На 90-у добу експерименту нами відзначено, що загибель клітин паренхіми і деструкція прилеглих внутрішньодолькових обмінних мікросудин не обмежується формуванням фокусів некрозу, а має місце тенденція до злиття ділянок омертвляння тканинних елементів з формуванням панацінарних порто-центральных некротичних зон, що порушують життєздатність гісторегіонів.

В умовах сумісного з ацетатом свинцю застосування α -токоферолу відзначається збереження ультраструктурних ознак мітохондріальної дисфункції гепатоцитів у вигляді деструкції обох мембран і дистрофічних змін матриксу. Це явище збігається з такими ж ознаками в серії Pb30, що дозволяє ідентифікувати мітохондріальну цитопатію гепатоцитів, що свідчить про стійкий стан клітинного гіпоергоза, що не піддається повноцінній корекції α -токоферолом.

Компенсація з боку клітинної системи енергопродукції внаслідок токсично індукованої деструкції мітохондрій знаходить свій прояв у формі внутрішньоклітинної регенерації, спрямованої на утворення нових молодих і гіпертрофованих мітохондрій. У серії E30 у частині мітохондрій спостерігається деструкція крист і розрив зовнішньої мембрани, що відкривається в цитозольну вакуоль. Критично несприятливе зниження площі мітохондрій у серії E60 асоційовано з адаптивно-компенсаторною гіпертрофією, тому що характеризується появою мітохондрій гігантських форм і задовільною збереженістю крист. У той же час, високий показник загальної площі в групі 90 доби супроводжується гіперплазією й появою дрібних молодих мітохондрій, однак матрикс новоутворених мітохондрій у переважній більшості випадків характеризується підвищеною електронною щільністю, що свідчить про порушення в його системі молекулярних біохімічних реакцій.

Альфа-токоферол робить частковий вплив, що нормалізує, на рівні функціонуючих органел гепатоцитів, що верифікується в недопущенні масової деструкції мітохондрій у цілому і їх крист. Однак, повноцінно очікуваної ультраструктурної реституції й мембранопротекції не відзначається.

У серіях, із застосуванням α -токоферолу, також як і у серіях з ізольованим введенням свинцю, виявляється зворотна залежність між відсотковим складом гетерохроматину у ядрах гепатоцитів й їх морфометричними показниками. Виявлений нами комплекс морфометричних змін (зниження) показників розмірів ядер, зменшення частки транскрибуємого еухроматину й зниження частки рибосомсинтезуючих локусів ядерця (гранулярного компоненту) у серії 90-у добу дозволяють говорити про глибокі розлади в системі ядерного пластичного обміну й морфогенезу гепатоцитів, що не може запобігти як екзогенний антиоксидант, але відстрочити на 30-у добу здатний. У першу чергу, нами був відзначений мембранопротекторний ефект вітаміну E, що знайшов своє вираження в досить задовільній схоронності ендотеліоцитів інтими всіх судин у всіх експериментальних групах цієї серії.

У серіях E30-90 виявлене компенсаторне розширення просвітів між-, а також навколочасточкових судин. Більша частина судин виглядала як спустошеною, однак, до 90-доби експерименту в них виявлявся стаз еритроцитів, що трактувалося як дизадаптивна реакція в системі регіонарної гемодинаміки, а також не виражений внутрішньосудинний гемоліз як дизадаптивна реакція. Документувалися маркери гемічної гіпоксії: поява кільцеподібних, шиповидних еритроцитів, плазматизація прилеглих розширених капілярів. На 90-у добу експерименту спостерігалися ознаки патологічного ремодельовання міжчасточкових судин, які значно розширювалися, гілкувалися й викикали компресію й деформацію часточок. Таким чином, ми можемо правочинно констатувати розвиток типового патологічного процесу – гемічної гіпоксії, індукованої надходженням в організм ацетату свинцю.

Найбільш виражена тенденція до гіперактивації фагоцитів з киснезалежним кіллінгом (нейтрофілів, моноцитів, тканинних макрофагів) спостерігалася в серіях з ізольованим, а також сумісним з α -токоферолом, застосуванням ацетату свинцю. На противагу цьому, α -токоферол, не попереджав процеси внутрішньосинусоїдальної адгезії нейтрофілів і моноцитів і не запобігав надлиш-

ковій інфільтрації паренхіми мононуклеарними фагоцитами. Крім того, наявність вогнища екстравазальної проліферації гепатичних макрофагів, інфільтрація паренхіми лімфоцитами й плазмоцитами на тлі присутніх фокальних внутрішньодолькових некрозів й ознак посиленого колагенутоворення в зонах тканинної деструкції розглядається нами як сукупність патоморфологічних ознак, що характеризують хронічне запалення.

Застосування ербісолу в більш повній мірі, ніж α -токоферол, впливає на тканинні системи транспорту й утилізації кисню в печінки. Внаслідок більш ефективного залучення адаптивно-компенсаторних і регенераторних реакцій площа мітохондрій у ці ж терміни перевищує контрольні значення. Застосування ербісолу більш ефективно, ніж α -токоферолу, відновлює ультраструктуру організації мітохондрій, хоча повної морфологічної реституції органел енергопродукції не відбувається. Ці два фармакопрепарата не можуть усунути повною мірою енергетичне неблагополуччя і використання кисню в клітинах гепатичної паренхіми.

На 30, 60 і 90 доби із застосуванням ербісолу показник відсоткового складу гетерохроматину так само, як і у серії з ізольованим застосуванням ацетату свинцю незначно перевищував контрольне значення. Виявлені нами аналогічні тенденції помірного збільшення відсоткового складу гетерохроматину (і, відповідно, зменшення відсотку транскрипційно активного еухроматину) у серії Pb і у серії Э, свідчать про помірні інгібовані транскрипційною активністю в ядрах гепатоцитів, не порушених некробіозом. Зіставивши це допущення з реально спостережуваною нами посиленою редуплікацією ДНК гепатоцитів у серії із застосуванням ербісолу, а також з тенденцією до не збільшення середнього відсотка двоядерних клітин паренхіми, можна констатувати, що адаптивні структурні перебудови хроматину в цій серії обумовлені, швидше за все, мітогенними ростовими факторами, які сприяють прогресії клітинного циклу до термінальної стадії – цитокінезу. Аналізуючи морфометричні показники ядер гепатоцитів слід зазначити, що площа профільного поля, максимального, мінімального й середнього діаметрів, а також периметрів ядер також залишаються зниженими в тимчасовому інтервалі 30-90 доби, однак таких критичних знижень, як у серії з ізольованим застосуванням ацетату свинцю, а також у серії з α -токоферолом, не відбувається. В середньому, ці показники стабільно варіюють у межах 65-80% від контрольних значень. Частка гетерохроматину в цій серії в усі часові інтервали залишається помірковано підвищеною, а відсоток гранулярного компоненту ядерець – помірковано зниженим. Тримісячне введення ербісолу найкраще, у порівнянні з α -токоферолом, запобігає критичним зрушенням внутрішньоядерного метаболізму і, тим самим, стабілізує реакції адаптивного морфогенезу ядер гепатоцитів, хоча й на зниженому, однак на екстремально нефізіологічному рівні.

Світлооптичні маркери синусоїдних гемокапілярів, характеризувалися зниженням площі в 30- і 60-доби строки експерименту. При цьому показник середнього діаметру капілярів у групі 30-у добу також був істотно знижений у порівнянні з контролем. Зафіксоване вкрай несприятливе для внутрішньочасточкового кровотоку зниження практично в 2 рази, у порівнянні з контролем, показників площі профільного перерізу капілярів у серії Э30, з яким також корелювали значення периметру капілярів, свідчать про зрив програм довгострокової судинної адаптації і неефективному неоангіогенезу.

Значної виразності процеси адаптивної компенсації досягали на 90-у добу, коли площа гемосудин перевищувала контрольний показник на одну третину. При цьому середній діаметр капілярів трохи перевищував контрольні значення. Ми розцінюємо це як успішну реалізацію комплексу короткострокових (вазодилатація) і довгострокових (новотвір капілярів) адаптивних судинних програм, досягненням гепатичними тканинними системами кінцевого корисного пристосувального результату. Порушення в системі транспорту кисню виражені мінімально, у порівнянні із застосуванням ацетату свинцю і токоферолу.

Спільне з ацетатом свинцю застосування ербісолу в більш повній мірі, чим α -токоферол, впливає, в тому числі на стромальний компонент. У цілому компенсаторно-адаптивні процеси в серіях Э30-60 досягають ступеня виразності, що дозволяють говорити про розгортання саногенетичних реакцій, які характеризуються клітинною регенерацією гепатоцитів, обмеженістю фокусів некрозу, залученням імуніцитів, посиленням колагенсинтезуючих процесів переважно в портальних трактах, успішною регенерацією синусоїдних капілярів, вимиканням еритроцитів із цитотоксичних мішеней свинцю. Нами встановлено, що тривале (60-90-добове) введення ербісолу мінімізувало процеси внутрісинусоїдальної адгезії нейтрофілів і моноцитів і запобігало екстравазальну

проліферацію клітин Купфера, що ми трактуємо як досягнення передкінцевого корисного пристосувального результату, спрямованого на запобігання можливого вільнорадикального й протеолітичного ушкодження внутрішньогепатичних тканинних структур. У тимчасовому інтервалі 60-90 доби ці патоморфологічні ознаки реєструвалися рідко, що дозволяє говорити про більш ефективний протизапальний вплив, що модулює, ербісол в порівнянні з α -токоферолом, що мінімізує тканинну деструкцію як паренхіматозних, так і судинних елементів печінки. Зареєстровані нами мінімальні ознаки проліферації екстравазальних клітин Купфера дозволяють говорити про імуномодулюючий і імунокоригуючий ефекти тривалого застосування ербісолу, що позитивно впливає на тканинний морфогенез і тканинну адаптацію.

Тривале 90-добове введення ербісолу супроводжується найкращим, у порівнянні з інтервенцією α -токоферолу, досягненням субклітинними, клітинними й васкулярними тканинними системами печінки цільових предкінцевих і кінцевих корисних пристосувальних результатів, які, однак, не приводять до бажаної повної структурної реституції органу. Максимальне наближення свинцевоїдукованих критичних змін гепатичної функціональної ультра- і мікроморфології до нормологічно електронно- і світлооптичних показників відзначається в системах тканинної паренхіми, непаренхіматозних клітин, а також гемокірсудин і портальних тріад. Задовільна реалізація адаптивних клітинних програм організму з метою компенсації патохімічних обумовлених порушень параметрів внутрігепатичного гомеостазу в умовах монотерапії ербісолу дозволяє поєднувати морфологічними методиками його мембранопротекторні, цитопротекторні й вазопротекторні властивості, що об'єктивно підсумується в досягненні найкращого органозберігаючого ефекту.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі представлене експериментальне рішення актуальної наукової задачі - світлооптичної й електронномікроскопічної візуалізації загальних закономірностей процесів клітинної і тканинної адаптації й компенсації, що розвиваються у відповідь на альтерацію в печінці білих мишей при тривалому надходженні в організм малих доз свинцю, а також впливі на них альфа-токоферолу та ербісолу.

1. Тривале надходження в організм мишей малих доз свинцю приводить до альтерації паренхіматозних і стромальних компонентів печінкових часточок, що характеризуються розвитком дистрофічних, некробіотичних і деструктивних змін з поступово наростаючим порушенням мікроангіоархітектоніки.

2. Поширеність деструктивних процесів у печінці при тривалому впливі малих доз свинцю не носить масивного характеру – некрози в усі строки спостережень не досягають ступеня мостоподібних і тотальних, а візуалізуються у вигляді обмежених інтралобулярних локусів. Це свідчить про включення компенсаторних механізмів й адаптації до впливу свинцевого хімічного фактора малої інтенсивності, що дозволяють забезпечити життєздатність значної популяції гепатоцитів в умовах патологічно зміненого гомеостазу.

3. Стабільно спостережувані ознаки гемічної гіпоксії й морфологічне підтверджене недосягнення пристосувального результату з боку судинного русла при тривалому надходженні в організм малих доз свинцю свідчать про формування критично несприятливого метаболічного мікросередовища для повноцінної реалізації адаптивних програм гепатоцитів.

4. Токсичні ефекти свинцю у всіх експериментальних групах мають однакові пріоритетні мішені – біологічні мембрани ендотелію, еритроцитів, гепатоцитів. Мембранотоксичні ефекти свинцю супроводжуються облігатною активацією клітинних еферентів у системі внутрішньопечінкового й імунного гомеостазу – макрофагів, лімфоцитів і плазмоцитів.

5. Застосування альфа-токоферолу при інтоксикації малими дозами свинцю робить помірний мембранопротекторний ефект на гепатоцити, сприяючи, зокрема, кращій збереженості мітохондрій і підтримуючи їх ефективний новотвір, що підтверджується перевищенням контрольних показників площі їх профільного перерізу на 90-добу.

6. Застосування альфа-токоферолу при хронічній інтоксикації малими дозами свинцю не запобігає гіперактивації клітинної лінії моноцит-макрофаг викликану необхідністю кліренсу тканинного детриту, що, у свою чергу, активує компенсаторні захисні механізми з боку стромального компонента печіночних часточок. Захисні реакції колагенсинтезуючих клітин реалізуються мітогенними і мотогенними ефектами, а посилена при цьому продукція міжклітинної речовини дозво-

ляє реалізувати захисні розмежувальні реакції на тканинному рівні, носячи риси компенсаторної патології.

7. Застосування ербісолу, на тлі введення ацетату свинцю робить мембранопротекторний ефект не тільки на паренхіматозні клітини, але також на еритроцити й ендотеліоцити, що знижує рівень їх альтерації й веде до розвитку очікуваного пристосувального результату в клітинних системах транспорту кисню й нутрієнтів, внутрішньочасточкової гемоперфузії. Це дозволяє реалізувати адаптивні й регенераторні потенції гепатоцитів у відповідь на мітогенний стимул, візуалізуючи у формі компенсаторної клітинної гіперплазії в серії Э60.

8. Сприятливий імуномодуючий ефект ербісолу реалізується у вигляді обмеження киснево-залежного кілінга макрофагічного диферону і його зайвої агресії, який призводить до значного клітинного спаду гепатоцитів у серіях E і P_b, також сприяючи збереженню локальної популяції клітин Купфера, що проявляє, у більшій мірі, регуляторно-реплікативні потенції відносно паренхіматозних клітин.

9. Ербісол сприяє, протягом двох місяців експерименту, найбільш повної й адекватної реалізації компенсаторно-пристосувальних процесів з боку стромальних, судинних і паренхіматозних компонентів печінкових часточок. Однак, в умовах тривалої дії токсиканта може тільки відстрочити й мінімізувати, а не запобігти розгортанню дистрофічним і деструктивним реакціям.

10. Реалізація довгострокових адаптивних-пристосувальних реакцій на внутрішньоклітинному рівні гепатоцитів, навколосудинних (імуноцитів, ендотеліоцитів) і стромальних колагенсинтезуючих клітин можлива тільки в умовах інтегративної кооперації й розгортання саногенетических процесів структурно-функціональних компонентів, що охоплює всі печінкові часточки, благополуччя усередині яких гарантує функціональну адекватність органа.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Обрана експериментальна модель дозволяє обґрунтувати необхідність профілактичних і терапевтичних заходів, тому, що доводить токсичні ефекти малих доз свинцю, порівняних з екологічно обумовленим надходженням в організм із навколишнього середовища, а також через плаценту й молоко матері.

2. Отримані дані є морфологічним підтвердженням можливості застосування α -токоферолу та ербісолу з метою фармакологічного коригування дистрофічних і деструктивних змін, які розвиваються в печінці при тривалій свинцевій інтоксикації.

3. Результати проведеного експерименту можуть бути використані в клінічній гепатології для розробки комплексних лікувальних і реабілітаційних заходів, при корекції використовуваних і розробці нових медикаментозних програм з метою адресної терапії екологічно обумовленого токсичного uszkodження печінки.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Купша Е.И. Морфо-функциональное состояние печени при свинцовой интоксикации и корригировании процесса токоферолом и эрбисолом / Е.И. Купша, Н.К. Каширина // Симпозиум «Біологія опорно-рухового апарату» (морфо-функціональні та клініко-прикладні аспекти), 3-5 листопада 2004, Сімферополь-Ялта. – Таврический медико-биологический вестник. – 2004. – Т. 7, №4. – С. 64–69. *(Здобувачем проведено експериментальні та морфометричне дослідження, узагальнення результатів, сформульовані висновки).*

2. Купша Е.И. Методы исследования морфофункционального состояния печени при хронической свинцовой интоксикации и корригировании процесса / Е.И. Купша, В.В. Бондаренко // Таврический медико-биологический вестник. – 2005. – Т. 8, №3. – С. 61–65. *(Здобувачем проведено морфометричне дослідження, узагальнення результатів, сформульовані висновки).*

3. Купша Е.И. Морфофункциональные проявления деструктивных, адаптивно-компенсаторных и регенераторных процессов на различных уровнях организации печени белых мышей в условиях функционального напряжения органа / Е.И. Купша, В.В. Бондаренко // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения: тр. Крым. гос. мед. ун-та им. С.И. Георгиевского. – Симферополь, 2005. – Т. 141, часть VI. – С. 43–48. *(Здобувачем проведено морфометричне дослідження, узагальнення результатів, сформульовані висновки).*

4. Купша Е.И. Состояние митохондрий гепатоцитов, внутридольковых и приносящих междольковых кровеносных сосудов печени мышей при длительном поступлении в организм субтоксических доз свинца / Е.И. Купша, В.В. Бондаренко, А.Н. Грабовой // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения: тр. Крым. гос. мед. ун-та им. С.И. Георгиевского. – Симферополь, 2006. – Т. 142, часть I. – С. 37–43. *(Здобувачем проведени експериментальні та морфометричне дослідження, узагальнення результатів, сформульовані висновки).*

5. Купша О.І. Морфо-функціональні прояви компенсаторно-приспосувальних реакцій стромального компоненту печінки білих мишей при тривалому надходженні в організм малих доз свинцю й їх корекція / О.І. Купша, О.М. Грабовий // Науковий вісник Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. – 2008. – № 4. – С. 57-63. *(Здобувачем проведени експериментальні та морфометричне дослідження, узагальнення результатів, сформульовані висновки).*

6. Купша О.І. Гісторадіоавтографічне дослідження при впливі хронічної кумуляції сполук свинця / О.І. Купша // Матеріали 58 науково-практичної конференції студентів та молодих вчених Національного медичного університету імені О.О. Богомольця з міжнародною участю “Актуальні проблеми сучасної медицини”, 28-31 жовтня. – Київ, 2003. – С. 83.

7. Купша Е.И. Влияние кумуляции ацетата свинца на печень / Е.И. Купша, Т.А. Купша // Теоретические и практические аспекты современной медицины: матер. 75-й межвуз. научно-практ. конф. студентов и молодых ученых Крым. гос. мед. ун-та им. С.И. Георгиевского. – Симферополь, 2003. – С. 21–22. *(Здобувачем проведени експериментальні та морфометричне дослідження, узагальнення результатів, сформульовані висновки).*

8. Купша Е.И. Морфологические аспекты применения препарата «ЭРБИСОЛ» в корригировании процессов при хронической свинцовой интоксикации печени белых мышей / Е.И. Купша, В.В. Бондаренко, Т.А. Купша // Теоретические и практические аспекты современной медицины: матер. 77-й межвуз. научно-практ. конф. студентов и молодых ученых Крым. гос. мед. ун-та им. С.И. Георгиевского. – Симферополь, 2005. – С. 48–49. *(Здобувачем проведени експериментальні та морфометричне дослідження, узагальнення результатів, сформульовані висновки).*

9. Купша Е.И. Морфология клеточных приспособительных реакций в печени белых мышей при длительном поступлении в организм малых доз свинца и применении альфа-токоферола и эрбисола / Е.И. Купша, Е.В. Асанова, С.И. Меметова // Теоретические и практические аспекты современной медицины: матер. 81-й международной научно-практ. конф. студентов и молодых ученых Крым. гос. мед. ун-та им. С.И. Георгиевского. – Симферополь, 2009. – С. 19. *(Здобувачем проведени експериментальні та морфометричне дослідження, опис електронномікроскопічних препаратів печінки, узагальнення результатів, сформульовані висновки).*

АНОТАЦІЯ

Купша О.І. Морфофункціональні зміни в печінці мишей при тривалому надходженні в організм малих доз свинцю і вплив на них альфа-токоферолу та ербісолу. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.09 – гістологія, цитологія, ембріологія. – Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського МОЗ України, Симферополь, 2010.

Дисертація присвячена вивченню морфофункціональних проявів компенсаторно-приспосувальних та альтеративних процесів в печінці білих мишей при тривалому надходженні в організм малих доз свинцю і їх коригування альфа-токоферолом та ербісолу. За допомогою сучасних методів (електронної мікроскопії, морфометрії з використанням оптичного аналізатора зображення) встановлено, що токсичні ефекти свинцю мають пріоритетні мішені, і виявляються у вигляді альтерації мембран гепатоцитів, ендотелію, еритроцитів. Застосування альфа-токоферолу чинить мембранопротекторний ефект на митохондрії гепатоцитів, а ербісол, також, ендотеліоцитів і еритроцитів та надає імуномодулюючий ефект на макрофаги, сприяючи кращому збереженню структур печінки.

Ключові слова: печінка, морфологія, свинець, α -токоферол, ербісол.

АННОТАЦИЯ

Купша Е.И. Морфофункциональные изменения в печени мышей при длительном поступлении в организм малых доз свинца и влияние на них альфа-токоферола и эрбисола. – Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – гистология, цитология, эмбриология. – Крымский государственный медицинский университет им. С.И. Георгиевского МЗ Украины, Симферополь, 2010.

Диссертация посвящена изучению морфофункциональных изменений, развивающихся в печени при длительном поступлении в организм ацетата свинца и влияние на них альфа-токоферола и эрбисола. Экспериментальное исследование проведено на 69 мышах-самцах линии BALB/c. С помощью комплекса современных методов (электронная микроскопия, гисторадиоавтография, морфометрия с применением оптического анализатора изображения) установлено, что в составе стромального, сосудистого и паренхиматозного компонентов печеночных долек, выявляются признаки компенсаторно-приспособительных и альтеративных процессов, степень выраженности которых зависит от сроков и вида воздействия.

Установлено, что, приоритетными мишенями токсических эффектов свинца являются эритроциты, эндотелиоциты и митохондрии гепатоцитов. Фиксируемые нами, во все сроки наблюдения, разрывы наружной и внутренней мембран митохондрий гепатоцитов, некрозы паренхимы, сладжи эритроцитов, деструкция эндотелия с отсутствием монослоя сплошной протяженности, свидетельствуют о преобладании процессов дезадаптации на уровнях мембранных органелл, клеточном, тканевом и ангиогистионов. Развертывающиеся параллельно компенсаторно-приспособительные реакции, ввиду дизрегуляторной прогрессии, носят дискретный характер и характеризуются слабостью и незавершенностью. Формирующийся при этом структурный базис служит пре- или коморбидным фоном для последующего достижения фатальной предконечной точки функционально ведущей ткани печени. Свой вклад в убыль гепатоцитов вносит стабильно существующий гипозэргоз (клеточная, тканевая и гемическая гипоксия), а также оксидативный стресс и гиперактивация макрофагов.

Применение альфа-токоферола, при продолжающейся интервенции свинца оказывает выраженный мембранопротекторный эффект на митохондрии гепатоцитов, а в сочетании с митогенным и митогенными процессами, затрагивающими популяцию коллагенсинтезирующих клеток и активацию иммуноцитов, призванных очистить зоны тканевого детрита, приводит к преобладанию дезадаптивных и защитно-компенсаторных реакций, в том числе избыточно выраженных. Вектор защитных реакций фиксируется, в основном, на гиперпродукции экстрацеллюлярной матрицы, разграничивающей зоны некроза и ремоделировании сосудистого русла. Альфа-токоферол не предотвращает повреждение эритроцитов, эндотелиоцитов, а также гиперактивацию моноцитарного дифферона, с его последующим самоповреждением, что закономерно результируется в срыве долгосрочных программ адаптации к 90-м суткам эксперимента.

Применение эрбисола в большей степени способствует реализации саногенетических процессов. Исключение эритроцитов из сайта токсических мишеней и недопущение развития капилляро-трофической недостаточности, дает возможность гепатоцитам ответить на митогенные стимулы и реализовать регенераторные потенции в виде внутриклеточной и клеточной пролиферации. Предотвращение гиперактивации макрофагов, в свою очередь, обеспечивает выход на первый план их регуляторной функции в этих компенсаторно-адаптивных процессах. Однако, в условиях продолжающегося действия токсиканта, полноценной реституции не наблюдается.

Ключевые слова: печень, морфология, α -токоферол, эрбисол.

SUMMARY

Kupsha E.I. Morphologic and functional changes in mice liver under prolonged ingestion of small lead doses in organism alpha-tocopherol and "Erbisol" influences on its. – Manuscript.

Thesis for scientific of Candidate of Medical Sciences in speciality 14.03.09 – histology, cytology, embryology. – Crimean State Medical University named after S.I. Georgievsky MPH of Ukraine, Simferopol, 2010.

The dissertation is devoted to study morphologic and functional displays of compensatory, adaptive and injury processes in white mice liver under prolonged influence of small lead doses on the organism and its correction by means α -tocopherol and "Erbisol". Using modern methods, such as light, electron mi-

croscopy, morphometry, optic analyzes, is established that toxic lead effects direct on the cellular targets, causing destruction of erythrocytes, endothelial cells, hepatocytes membranes. Application of α -tocoferol causes membrane protective effect of the hepatocytes mitochondria. Administration of "Erbisol" protects erythrocytes, endothelial cells membranes and causes immunomodulatory effect on the macrophages, providing better safety hepatic structures.

Key words: liver, morfology, lead, α -tocoherol, erbisol.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ГрЕПС – гранулярна ендоплазматична сітка

ДНК – днзоксирибонуклеїнова кислота

ІМК– і ндекс мічених клітин

Е – експериментальні тварини з одночасним застосуванням ацетату свинцю і α -токоферолу

Э – експериментальні тварини з одночасним застосуванням ацетату свинцю і ербісолу

РЬ– експериментальні тварини з ізольованим застосуванням ацетату свинцю

Підписано до друку 11.02.10. Здано в набір 15.02.10.

Формат 60x84/16. Папір офсетний.

Умовн.друк.арк. 0,9. Авт.арк. 0,9. Тираж 100.

Замовлення №134.

Віддруковано у видавничному центрі КДМУ.

95006, м. Сімферополь, б. Леніна 5/7.

т. (0652) 294-945