

1

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

**ЗАХЛЄБАЄВА ВІКТОРІЯ ВАЛЕРІЇВНА**

УДК 611.36-001.28:613.632

**МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ ТВАРИН  
ЗА ДІЇ ІОНІЗУЮЧОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ  
І СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ  
(анатомо-експериментальне дослідження)**

14.03.01 – нормальна анатомія

Атореферат  
дисертації на здобуття наукового  
ступеня кандидата медичних наук

Сімферополь - 2007

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в медичному інституті Сумського державного університету МОН України.

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор **Сікора Віталій Зіновійович**, медичний інститут Сумського державного університету МОН України, завідувач кафедри анатомії людини.

**Офіційні опоненти:** заслужений діяч науки і техніки України, доктор медичних наук, професор **Федонюк Ярослав Іванович**, Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України, професор кафедри анатомії людини;

доктор медичних наук, професор **Колбасін Павло Миколайович**, Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського МОЗ України, професор кафедри загальної гігієни та екології.

**Провідна установа:** Харківський державний медичний університет МОЗ України, кафедра анатомії людини.

Захист відбудеться 18.04.2007 р. о 15\_ 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 університету ім. С.І. Георгієвського МОЗ України (95006, Україна, АР Крим, м. Сімферополь, бульвар Леніна, 5/7).

Автореферат розісланий 12.03.2007 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради

Г.О. Мороз

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність проблеми.** В умовах прогресуючого техногенного забруднення навколишнього середовища вивчення впливу на живий організм різних екологічних чинників, зокрема іонізуючого випромінювання і хімічних речовин, не втрачає актуальності, оскільки останні є факторами ризику розвитку багатьох екологічно залежних хвороб. В Україні склалася майже критична екологічна ситуація. Аварія на Чорнобильській АЕС призвела до значного забруднення радіонуклідами зовнішнього середовища в багатьох регіонах України, що не може не вплинути на стан здоров'я населення (С.Ф. Алешко, 1996; А.Д. Царегородцев, 1996; Л.А. Ильин, 1998; Ю.Г. Антипкін та співавт., 2000). Накопичений великий експериментальний матеріал щодо впливу радіації на організм (Ю.И. Москалев, 1991; Р. Грэйб, 1994; В.Н. Позолотина, 1996; М.И. Руднев, 1999; В.К. Иванов, А.Ф. Цыб, 2001). Останнім часом актуальною залишається проблема, пов'язана з дією малих доз радіації, під впливом яких знаходиться населення, оскільки на забруднених радіонуклідами територіях відмічається підвищення захворюваності серед населення, особливо захворювання кровотворної, ендокринної та травної систем (А.Н. Верповский, 1994; В.Т. Зайцев и соавт., 1994; И.Б. Кеирим-Маркус, 1997; О.Я. Бабак, 2003). Інтенсивний розвиток промисловості, розширення асортименту хімічних речовин, що використовуються у сільському господарстві, призвело до забруднення довкілля цілим комплексом шкідливих для здоров'я населення хімічних факторів. Серед останніх важливе місце посідають солі важких металів. Вони потрапляють в організм багатьма шляхами, спричиняючи різні за механізмом і походженням патологічні процеси (Б.М.Штабський та співавт., 2000; І.В. Мудрий, Т.К. Короленко, 2002).

Найбільшої агресії з боку екологічних хімічних чинників зазнає печінка. Це пов'язано з її детоксикуючими властивостями, тому що цей орган виконує загальну антитоксичну функцію в організмі. Багато промислових відходів, у їх числі і солі важких металів, мають гепатотропну дію (В.С. Ткачишин, 2003; О.М. Лукьянова, 2005). Деякі токсичні речовини (ртуть, свинець, марганець) депонуються в печінці, ушкоджуючи печінкові клітини і порушуючи їх функцію, і спричиняють розвиток токсичного ураження печінки (В.Г. Артамонова и соавт., 1996; Г.Л. Радуева и соавт., 1998; О.Я. Бабак, 2003).

Організм людини зазнає впливу одночасно кількох несприятливих чинників, протягом життя контактує з багатьма хімічними речовинами і в умовах підвищеного радіаційного фону зазнає постійного впливу малих доз іонізуючого випромінювання. Морфологічні дослідження останніх років показали, що печінка чутлива до дії різних екзогенних чинників (Н.Ш. Шамсутдинов и соавт., 1997; И.Х. Валеева и соавт., 2000; Ю.И. Денисов-Никольский и соавт., 2001). Але немає єдиного погляду на ступінь чутливості цього органа до дії променевої енергії. Узагальнення літературних даних виявило обмежену кількість досліджень комбінованої

дії металів і радіації на печінку стосовно особливості, характеру та механізму дії різних комбінацій хімічних і фізичних факторів.

Дослідженнями, проведеними у 2000 році, виявлено підвищення радіаційного фону і наявність у воді та ґрунті підвищеної концентрації солей свинцю, хрому, цинку, міді, марганцю у деяких районах Сумської області (згідно „Доповіді про стан навколишнього природного середовища в Сумській області у 2000 році”, виданої Міністерством екології і природних ресурсів України, Державним управлінням екології та природних ресурсів у Сумській області, яка є складовою частиною „Національної доповіді про стан навколишнього середовища в Україні у 2000 р.”). Враховуючи цю складну екологічну ситуацію, виникає необхідність у проведенні дослідження із вивчення сумісної дії іонізуючого випромінювання і важких металів на печінку, враховуючи її численні функції в організмі, порушення яких спричиняє зміни гомеостазу організму. Розуміння механізмів ушкоджуючої дії екологічних чинників дозволить прогнозувати й передбачати негативні наслідки, визначити шляхи профілактики та корекції.

Враховуючи все вищенаведене, актуальним є вивчення морфофункціональних змін у печінці в умовах дії комбінації екологічних чинників, що й стало метою даного дослідження.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація виконана у відповідності до плану наукових досліджень Сумського державного університету і є частиною науково-дослідницької теми медичного інституту “Вивчення стану здоров'я дитячого та дорослого населення Сумської області в умовах впливу несприятливих соціальних, екологічних та економічних чинників” (номер державної реєстрації 0101U002098) і держбюджетної теми кафедри анатомії людини (№83.01.01.03-05) „Морфологічні зміни у внутрішніх органах під впливом несприятливих факторів зовнішнього середовища Сумщини і шляхи їх корекції”.

**Мета дослідження.** Визначити морфофункціональні зміни печінки тварин в умовах комбінованої дії іонізуючої радіації та солей важких металів і обґрунтувати можливості корекції їх пошкоджуючої дії мексидолом.

**Задачі дослідження.**

1. Вивчити основні вікові морфологічні зміни печінки інтактних щурів з метою проведення коректного порівняльного аналізу отриманих експериментальних даних.
2. Дослідити особливості структурних змін печінки щурів за умови дії іонізуючого випромінювання.
3. З'ясувати особливості перебудови печінки тварин, які отримували підвищену кількість солей важких металів.
4. Визначити структурно-метаболічний стан печінки щурів в умовах комбінованої дії іонізуючого випромінювання і солей важких металів.

5. З'ясувати можливість застосування мексидолу для корекції негативного впливу випромінювання і солей важких металів на печінку білих щурів.

*Об'єкт дослідження* - вплив комбінованої дії іонізуючого випромінювання і солей важких металів на організм.

*Предмет дослідження* - морфофункціональні зміни в печінці білих щурів в умовах дії іонізуючого випромінювання і солей важких металів.

*Методи дослідження* - 1) морфологічні: макроскопічні з органометрією - для визначення структури печінки на органному рівні, гістологічні з морфометрією - для визначення структури печінки на тканинному рівні, електронно-мікроскопічні - для визначення функціонального стану клітинних структур; 2) метод хімічного аналізу - для кількісної оцінки показників хімічного складу печінки; 3) статистичні методи - для аналізу і встановлення вірогідності кількісних показників морфологічних досліджень.

**Наукова новизна отриманих даних.** Уперше на достатньому експериментальному матеріалі розкриті основні закономірності будови і особливості порушень вмісту хімічних елементів печінки щурів за умови дії іонізуючого випромінювання і споживання підвищеної кількості солей важких металів, які полягають у зміні морфофункціонального стану печінкових клітин і зниженні їх метаболічної активності. Вперше виявлена залежність структурних змін від дози радіації і терміну навантаження тварин солями важких металів, яка має лінійний характер. Вивчені порушення на органному, клітинному і субклітинному рівнях у печінці щурів за дії змодельованих екологічних чинників Сумщини. Досліджена можливість застосування мексидолу для корекції структурно-функціональних порушень печінки, спричинених екологічно несприятливими факторами.

**Практичне значення отриманих результатів.** Проведене дослідження дозволило з'ясувати окремі патогенетичні ланки механізму ушкоджуючої дії низьких доз іонізуючого випромінювання на мікро- та ультраструктуру печінки. Визначена морфофункціональна реакція органа на підвищене споживання солей, що містяться в надлишковій кількості у воді та ґрунті деяких регіонів України і в Сумській області. Отримані дані про комбіновану дію радіації і солей важких металів є морфологічною основою обґрунтування виникнення патологічних змін організму, а також їх прогнозування, що може бути використано в клініці внутрішніх хвороб, педіатрії, екології, радіології, тощо.

З'ясування механізму комбінованого впливу змодельованих екологічних чинників створює передумови для цілеспрямованого пошуку ефективних гепатопротекторів, зокрема, пропонується застосування антиоксиданта мексидолу як корегуючий засіб при радіаційних і токсичних ураженнях печінки.

Результати експериментальних досліджень впроваджені в навчальний процес і науково-дослідну роботу на кафедрі анатомії людини, патологічної анатомії та судової медицини, екології і забезпечення життєдіяльності Сумського державного університету, кафедрах анатомії людини Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського, Івано-Франківського державного медичного університету, Ужгородського національного університету, Запорізького державного медичного університету, Луганського державного медичного університету, Кримського державного медичного університету ім. С.І. Георгієвського, Вінницького національного медичного університету.

**Особистий внесок дисертанта.** Дисертантом здійснений інформаційний пошук та огляд даних літератури, самостійно проведені всі експериментальні дослідження, статистична обробка результатів та їх аналіз. Інтерпретація отриманих результатів, основні положення, що винесені на захист, і висновки дисертації належать автору.

**Апробація результатів дисертації.** Основні матеріали дисертації повідомлені та обговорені на III Всеукраїнській науково-практичній конференції викладачів, студентів та молодих вчених „Сучасні проблеми клінічної та теоретичної медицини” (Суми, 2004 р.), науково-практичній конференції та пленумі Асоціації інфекціоністів України (Тернопіль, 2004 р.), Міжнародній науково-практичній конференції студентів, молодих вчених, лікарів і викладачів „Сучасні проблеми клінічної та теоретичної медицини”, присвяченої Дню науки в Україні (Суми, 2005 р.), VIII Міжнародній науково-практичній конференції „Наука і освіта 2005” (Дніпропетровськ, 2005 р.), IV Національному конгресі АГЕТ України (Сімферополь/Алушта, 2006 р.).

**Публікації.** За темою дисертації автором опубліковано 12 наукових робіт, з них 7 – у фахових наукових виданнях, 5 – у матеріалах з’їздів і конференцій. 9 наукових праць опубліковано за одноособовою участю автора.

**Структура й обсяг дисертації.** Дисертація викладена державною мовою на 192 сторінках, ілюстрована 58 фотографіями, 12 графіками та 13 таблицями (займають 38 сторінок). Робота складається зі вступу, розділів: огляд літератури, матеріали і методи дослідження, результати власних досліджень, аналіз результатів дослідження, а також висновків і практичних рекомендацій. Список літератури містить 315 джерел, у тому числі 108 іноземних.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали та методи дослідження.** Експериментальне дослідження проведено на 220 білих безпородних щурах-самцях 3-місячного віку, масою 150-200 г, що знаходилися в стаціонарних умовах віварію. Дослідження з порівняльної гістології печінки виявили, що за багатьма параметрами гепатоцити людини і щурів принципово не відрізняються.

Тварин вводили в експеримент після ретельного огляду, враховуючи стан шерстяного покриву та локомоторну активність. Досліди проводилися відповідно до „Правил проведення работ с использованием экспериментальных животных”.

В залежності від виду експерименту тварини були розподілені на 5 серій. Перша серія (30 щурів) поділена на 3 групи. Тварини першої групи (R1) отримали одноразово загальне опромінення в дозі 0,1 Гр на установці „Rocus” (енергія квантів – 1,25 МеВ, потужність дози – 60 Р/хв.); друга група (R2) опромінювалася двічі дозою 0,1 Гр з інтервалом у тиждень і отримала загальну кількість опромінення 0,2 Гр; третя група (R3) опромінювалася тричі і отримала загалом 0,3 Гр. Друга серія (30 щурів) підлягала навантаженню солями важких металів. Дози металів відповідали даним Новомосковської експедиції: міді – 1 мг/л; свинцю – 0,1 мг/л, цинку – 5 мг/л, хрому – 0,1 мг/л, марганцю – 0,1 мг/л. Перша група тварин цієї серії (С1) одержувала з питною водою солі важких металів протягом одного, друга(С2) – протягом двох і третя (С3) – протягом трьох місяців. Третя серія (90 щурів) – дослідження сумісного впливу загального іонізуючого опромінення і солей важких металів у дозах і термінах, зазначених у перших двох серіях. Дана серія розбита на групи: R1+С1, R1+С2, R1+С3, R2+С1, R2+С2, R2+С3, R3+С1, R3+С2, R3+С3. Четвертій серії (30 щурів) – проводилась корекція морфофункціональних змін у печінці мексидолом, який вводили внутрішньоочеревинно в дозі 50 мг/кг протягом тижня. Дану серію склали групи R3+К, С3+К, R3+С3+К. П’ята серія - інтактні щури, поділені на 4 групи (3, 4, 5 і 6 місяців) по 10 тварин у кожній, що відповідало віку експериментальних тварин на момент закінчення експерименту.

Після закінчення дослідження експериментальні і контрольні тварини забивалися під ефірним наркозом шляхом декапітації. Попередньо проводилося їх зважування. На дослідження забиралася печінка.

Відносну масу печінки визначали за формулою:

$$M_{відн.} = \frac{M_{п} \times 100}{M_{т}}$$

де  $M_{відн.}$  – відносна маса печінки,  $M_{п}$  – маса печінки даного щура,  $M_{т}$  – маса тіла даного щура.

Лінійні розміри печінки (довжина, ширина, товщина) змірювали за допомогою штангенциркуля з точністю до 0,1 мм.

Для гістологічного дослідження печінку фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну, промивали проточною водою, дегідрували в спиртах зростаючої концентрації та

занурювали у парафін. На санному мікроскопі виготовлялися зрізи товщиною 5-7 мкм. Препарати забарвлювали гематоксилін-еозином. Морфометрію гістопрепаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа „Олімпус” з цифровою відеокамерою та пакетом прикладних програм „Відео Тест 5,0” та „Відео розмір 5,0”. Зображення зберігали на вінчестері з наступним друком кольорових ілюстрацій.

Для електронно-мікроскопічного дослідження тканину печінки розміром 1 мм<sup>2</sup> занурювали в 1 % забуферений розчин чотириокису осмію при температурі 4<sup>0</sup>С. Після фіксації промивали у буферному розчині і проводили дегідратацію в спиртах зростаючої концентрації та ацетоні. Потім її укладали в суміш епоксидних смол за загальноприйнятою методикою. Ультратонкі зрізи одержували на ультрамікроскопі УМПТ-6, контрастували цитратом свинцю і переглядали на електронному мікроскопі ЕВМ-100 БР гепатоцити і ретикулоендотеліоцити.

Для визначення хімічного складу зважену печінку від даної групи закривали у сушильній шафі при температурі 105<sup>0</sup>С і висушували до постійної ваги. За різницею у вазі вологої і сухої печінки визначали кількість води. Потім висушену тканину спалювали в порцелянових тиглях у муфельній печі при температурі 450<sup>0</sup>С протягом 48 годин. Шляхом зважування золи вираховувалася загальна кількість мінеральних речовин, а за різницею у вазі сухої печінки і попелу – кількість органічних речовин. Отриманий попіл розчиняли в 10 % соляній кислоті і доводили бідистильованою водою до визначеного об'єму. На атомному абсорбційному спектрофотометрі С-115М1 за загальноприйнятою методикою визначали кількість міді (довжина хвилі – 324,7 нм), цинку (довжина хвилі – 213,9 нм), хрому (довжина хвилі – 357,9 нм), свинцю (довжина хвилі – 287,3 нм) і марганцю (довжина хвилі – 279,5 нм).

Отримані дані обробляли статистично на персональному комп'ютері із використанням пакета прикладних програм. Достовірність розходження експериментальних і контрольних даних оцінювали з використанням критерію Ст'юдента, достатньою вважали ймовірність помилки менше 5 % (P<0,05).

**Результати дослідження та їх обговорення.** Аналізуючи результати дослідження впливу іонізуючого випромінювання в малих дозах (0,1 Гр; 0,2 Гр; 0,3 Гр) на печінку тварин, виявлені зміни на органному, клітинному і субклітинному рівнях, ступінь яких була залежна від отриманої дози опромінення. Відмічено достовірне збільшення відносної маси печінки в групах R1, R2 і R3 на 19,7 %, 26,6 % і 34,4 % відповідно, а також її довжини і ширини відповідно групам на 4,7 % і 2,3 %; 6,4 % і 4,0 % та 9,6 і 8,8 %.

Іонізуюче випромінювання викликає судинні розлади в органі. Відмічено повнокрів'я судин, наявність престазів і стазів, розширення навколокапілярних просторів і синусоїдів. Зі збільшенням дози випромінювання ці розлади поглиблювалися. Визначався набряк судинних



стінок, гіперплазія ендотелію, набряк перипортальної сполучної тканини, лімфогістіоцитарна інфільтрація сполучної тканини навколо печінкових судин.

Зміни гістоструктури печінки тварин знаходились у лінійній залежності від дози випромінювання. У групах R1-R2 ці зміни були помірними. Загальний малюнок печінкової тканини збережений, лише подекуди визначалася дисконкомплексація печінкових балок. Гепатоцити збільшені, з ущільненою цитоплазмою та ознаками дрібновакуольної дистрофії. Ядра нерівномірно забарвлені, набряклі. На субклітинному рівні визначається конденсація хроматину по периферії ядра, гіперплазія мітохондрій, гіпертрофія комплексу Гольджі.

Морфометричні показники печінки, що вивчалися, змінювалися зі збільшенням отриманої тваринами дози. Відповідно до груп піддослідних тварин цієї експериментальної серії R1, R2 і R3 відносний об'єм ушкоджених гепатоцитів склав  $22,4 \pm 3,2$  %;  $29,2 \pm 2,7$  % і  $43,7 \pm 2,4$  %. Кількість гепатоцитів на 100 п.з. збільшилася на 13,4 % і 14,9 % у перших двох групах, а у тварин третьої зменшилася на 10 %; кількість двоядерних гепатоцитів збільшилася на 11,6 %, 21,2 % і 15,0 % відповідно.

При максимальній дозі радіації у наших дослідженнях (0,3 Гр) відмічена дисконкомплексація печінкових балок, розвивалася жирова і вакуольна дистрофія значної частини гепатоцитів. Ультраструктура гепатоцитів щурів цієї групи набула змін, що переходять межу фізіологічної компенсації. Відмічено різке набухання мітохондрій, зменшення кількості крист, що свідчить про порушення біоенергетики печінкових клітин. Цистерни гранулярного ендоплазматичного ретикулуму розширені, зменшена кількість зв'язаних і вільних рибосом і полісом. Комплекс Гольджі редукований. Такі ж зміни спостерігалися і в ендотеліоцитах. Внутрішньоклітинні дистрофічні процеси з елементами деструкції розвивалися в купферівських клітинах. Відмічені деструкція крист мітохондрій, поява осередків лізису зовнішньої мембрани, розширення цистерни ендоплазматичної сітки.

Відбувається зміна хімічного складу печінки при опроміненні малими дозами іонізуючого випромінювання. Зі збільшенням терміну дії опромінення і його величини зростає втрата печінкою води на 6,4 % у групі R1, на 10,7 % - у групі R2 і на 12,5 % - у групі R3 ( $P < 0,05$ ). Зневоднення спричиняє виведення із печінки мікроелементів. Достовірно знижується вміст міді відповідно групам R1-R3 на 9,7 %, 12,7 % і 16,2 % ( $P < 0,05$ ); цинку – на 3,5 %, 6,9 % і 9,8 % ( $P < 0,05$ ); марганцю – на 12,5 %, 18,7 %, 22,3 % і хрому – на 4,25 %, 7,9 %, 11,4 % ( $P < 0,05$ ). Зниження свинцю незначне – на 2,7 %, 4,2 % і 5,4 % відповідно групам. Загальна мінералізація печінки зростає з 29,7 % (R1) до 44,3 % (R3), що, можливо, пов'язано з відкладанням у міжклітинному просторі кальцію та інших макроелементів.

Солі важких металів спричиняють у печінці більш суттєві зміни, ніж радіація. Визначалася дисконкомплексація печінкових балок, яка прогресувала зі збільшенням терміну наван-

таження до 3-х місяців, в часточках з'являлися дрібні вогнища некрозу. У порівнянні з дією іонізуючого випромінювання поглиблюються дистрофічні процеси в гепатоцитах. Більшість з них з ознаками жирової, зернистої, а в деяких клітинах і балонної дистрофії. Цитоплазма втрачає базофільність, відмічається дискаріоз, багато без'ядерних клітин. Кількість двоядерних гепатоцитів і цитоплазматичне відношення у групах С2 і С3 знизилась на 3,9 % і 2,5 % та 16 % і 21,1 % відповідно.

Тривала дія солей важких металів (2-3 міс.) викликає значні зміни на субклітинному рівні. Структурно це визначається дрібновогнищевою деструкцією мембран ендоплазматичної сітки, зовнішніх мембран і крист мітохондрій, ядерної мембрани. Це прояви серйозних порушень біоенергетичних процесів у клітині, що спричиняє зниження синтетичної і репараційної активності метаболізму органел (О.А. Терман, 1995; Г.Л. Радуева и соавт., 1998). Розвиток катаболічних процесів структурно підтверджується редукцією пластинчастого комплексу Гольджі і появою в ділянці його локалізації великої кількості вторинних лізосом.

Дослідження хімічного складу печінки визначило підвищення кількості отриманих із питною водою мікроелементів. Кількість неорганічних речовин збільшилася на 58,6 %, 64,6 % і 71,0 %, а вологість зменшилася на 10,9 %, 17,1 % і 16,3 % відповідно групам С1, С2 і С3.

Комбінована дія солей важких металів і опромінення викликають у печінці більш глибокі зміни у порівнянні з дією тільки одного несприятливого чинника, що є наслідком сумації негативної дії двох факторів.

Зміни гістоструктури печінки у піддослідних тварин цих груп залежали від тривалості навантаження солями важких металів. Розвивалися дистрофічні зміни в гепатоцитах від дрібних ліпідних включень у тварин групи R1+C1, помірної зернистої і жирової дистрофії у печінці щурів групи R1+C2 до появи клітин з грубозернистою, вакуолізованою, іноді з ацидофільним забарвленням цитоплазмою, з пікнотичними ядрами, з вогнищами круглоклітинної інфільтрації і некрозу у групі R1+C3. Незважаючи на зростання дистрофічних і деструктивних процесів, виявляються виражені адаптаційно-компенсаторні процеси, що вказує на високий регенеративний потенціал печінки. Збільшується кількість гепатоцитів на одиницю площі на 8,4 % у групі R1+C1, на 22,5 % - у групі R1+C2. Відповідно у цих групах збільшується ядерно-цитоплазматичне відношення на 17,4 %, 8,1 %, а також кількість двоядерних гепатоцитів.

Із зростанням терміну вживання солей збільшується конденсація хроматину по периферії ядра, змінюються оболонки останнього. Зростає набряк мітохондрій і вакуолізація їх крист. Розширюються цистерни ендоплазматичної сітки. Знижується кількість вільних рибосом, полісом і глікогенових гранул. Комплекс Гольджі помірно редукується. Зі збільшенням терміну вживання солей важких металів до 3 місяців дистрофічні процеси переростають у

деструктивні. У деяких гепатоцитах зустрічаються безструктурні зони. Комплекс Гольджі редукується.

При збільшенні дози іонізуючого випромінювання до 0,2 Гр за умови дії солей важких металів в тих же концентраціях і термінах, що і в попередніх групах піддослідних тварин, зміни гістоструктури печінки прогресують. Більшість гепатоцитів з ознаками зернистої і жирової дистрофії. Зустрічаються гепатоцити зі спустошеною цитоплазмою і без ядер. Посилюються деструктивні процеси – у деяких часточках утворюються безструктурні зони та поодинокі інфільтрати.

На субклітинному рівні визначалися дистрофічні зміни органел. Зменшувалася їх кількість у цитоплазмі гепатоцитів. Мітохондрії набувають майже округлої форми, зменшується число крист, мембрани мітохондрій частково лізуються. Зростає деструкція ендоплазматичного ретикулулу з утворенням електроннопрозорих вакуолей. Різко знижується вміст глікогену. Кількість рибосом і полісом зменшується.

Отже, комбінація двох екологічних чинників – опромінення і навантаження металами викликає більш значні зміни в печінкових клітинах, ніж вплив одного несприятливого фактора окремо. Із збільшенням дози радіації і терміну споживання сполук важких металів ці зміни зростають і переходять із фази адаптаційно-репараційної у деструктивно-некротичну, про що свідчать результати третьої серії експерименту (R3+C1-C3).

При вивченні гістоструктури органа визначалося розростання сполучної тканини. Зустрічалися ділянки, в яких паренхіма заміщувалася сполучною тканиною. Втрачалася радіальне розташування печінкових пластинок і межі часточок. У більшості гепатоцитів розвивалася зерниста і жирова дистрофія. Контури гепатоцитів втрачали чіткість, цитоплазма у багатьох спустошена. Більшість ядер у стадії каріопікнозу, багато без'ядерних клітин.

Дистрофічні зміни клітинних органел розвивалися швидше і переходили у деструктивну фазу. В гепатоцитах групи R3+C1 значно зменшувалася кількість крист мітохондрій, знижувалася електронна щільність їх матриксу. Цистерни гранулярного ендоплазматичного ретикулулу вакуолізовані. На його мембранах зменшувалася кількість рибосом і полісом, що свідчить про зниження інтенсивності синтезу білків як для репаративних потреб клітини, так і для потреб організму. В кінці другого місяця експерименту (R3+C2) у гепатоцитах з'являлася дрібновогнищева деструкція внутрішньоклітинних мембран. Поглиблення деструктивних процесів підтверджується редукцією пластинчастого комплексу Гольджі та появою у цитоплазмі великої кількості вторинних лізосом і ліпідних включень. У кінці експерименту катаболічні процеси в гепатоцитах переважали над синтетичними, що структурно проявлялося деструкцією значної кількості мітохондрій і їх крист, фрагментацією мембран гранулярного ендоплазматичного ретикулулу і редукцією комплексу Гольджі.

Для цієї експериментальної серії характерний підвищений вміст у печінці тих металів, що надходили в організм з питною водою, але він був нижчий, ніж у щурів другої експериментальної серії. Вміст марганцю, який входить до складу коферменту лужної фосфатази, вищий від контрольної групи на 7,1 % (R3+C1), 13,8 % (R3+C2) і 18,5 % (R3+C3). Кількість цинку, який входить до складу карбоангідрази, дегідропептидази і інших ферментів, що забезпечують вуглеводний обмін, збільшується відповідно на 14,9 %, 20,9 % і 37,6 %. Вміст міді, яка міститься в цитохромі, є збільшеним відповідно на 2,4 %, 6,5 % і 16,4 %. Вміст хрому та свинцю збільшується відповідно на 4,7 % і 7,4 % (R3+C1), 6,8 % та 16,2 % (R3+C2) і на 11,5 % і 22,7 % (R3+C3). Відбувається подальше зниження у печінці води. Всі дані статистично достовірні ( $P < 0,05$ ).

У наступній частині роботи вивчалася здатність мексидолу корегувати ушкоджуючу дію радіації і солей важких металів на печінку. При дифузних захворюваннях печінки, зумовлених радіаційним ефектом, збільшується проникливість клітинних мембран як наслідок активізації процесів пероксидації (О.Є.Маєвський, 2003). Руйнування клітинних мембран і збільшення клітинних катаболічних ферментів спричиняє розвиток деструктивних процесів. Тому для нормалізації проникливості і функцій клітинних мембран доцільна корекція перекисного окислення ліпідів (О.В. Паламарчук, 2003). В якості коректора застосовувався препарат мексидол (2-етил-6-метил-3-оксипіридину сукцинат). Він має виражену антиоксидантну, ангіопротекторну, антигіпоксичну, цитопротекторну активність. Мексидол вводили внутрішньоочередовно в дозі 50 мг/кг протягом 7 днів. Корекцію мексидолом проводили тваринам, які отримали максимальну дозу опромінення 0,3 Гр (група R3+K), підвищене навантаження солями важких металів протягом 3 місяців (C3+K), а також щурам, які зазнали впливу комбінації цих двох чинників (R3+C3+K).

Дослідженнями визначено радіопротекторну дію мексидолу. Це проявлялося збереженням балочної структури печінкових часточок. Майже не зустрічалися гепатоцити в стадії некрозу і некробіозу. Гепатоцити збільшені за розмірами, збільшені і їх ядра. Про захисну дію мексидолу свідчать морфометричні показники. Кількість гепатоцитів на 100 п.з. збільшена на 6,7 % ( $P < 0,05$ ), відносний об'єм ушкоджених гепатоцитів склав 29,6 %, кількість двоядерних гепатоцитів зросла на 18,2 % у порівнянні з контролем.

Ультрамікроскопічне дослідження печінкових клітин виявило помірно виражені зміни клітинних органел у деяких гепатоцитах: мітохондрії збільшені за розмірами, з просвітленим матриксом, каналці гладкої ендоплазматичної сітки дещо розширені, кількість їх збільшена. Цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки теж розширені. Поряд з цим було багато гепатоцитів з добре збереженими клітинними органелами.

Встановлена протекторна дія мексидолу і у групи тварин, що отримували протягом 3 місяців із питною водою підвищену кількість солей важких металів на тлі введення мексидолу. Гістоструктура печінки тварин цієї групи у порівнянні з контролем змінювалась, але ці зміни менше виражені, ніж за дії тільки сполук важких металів. Морфометричні показники мало відрізнялись від аналогічних у інтактних тварин.

Гістологічне дослідження печінки виявило помірні судинні розлади, збільшення розмірів гепатоцитів, поліморфізм їх ядер. У деяких гепатоцитах були ознаки жирової і зернистої дистрофії. Однак менше виражені деструктивні процеси – помірна дисконкомплексация печінкових балок, цитоплазма багатьох гепатоцитів зберігала базофільність, вогнища некрозу в часточках майже не зустрічались. Дослідження на ультраструктурному рівні виявили помірне ушкодження клітинних органел. Ядра переважно округлої форми, нуклеоплазма просвітлена внаслідок конденсації хроматину уздовж ядерної оболонки. Ядерна мембрана розпушена. Перинуклеарний простір розширений. Мітохондрії збільшені у розмірах, набряклі, кількість крист зменшена. Цистерни гранулярного ендоплазматичного ретикулуму містять вакуолі низької електронної щільності. На його мембранах численні рибосоми. Комплекс Гольджі гіпертрофований.

При дослідженні вмісту мікроелементів у печінці піддослідних тварин виявлено достовірне збільшення кількості міді, хрому, марганцю, цинку і свинцю, зменшення кількості води і органічних речовин.

Дещо меншим виявився протекторний потенціал мексидолу у групі тварин, які знаходилися в умовах комбінованої дії іонізуючого випромінювання в дозі 0,3 Гр і підвищеного навантаження солями важких металів протягом 3 місяців на тлі застосування коректора (R3+C3+K). Визначалися дистрофічні і деструктивні процеси в печінкових клітинах, але ступінь цих змін був нижчим, ніж у групі R3+C3. Більшість гепатоцитів зменшені в розмірах. Морфометричні показники кращі, ніж у тварин групи R3+C3: відносний об'єм ушкоджених гепатоцитів склав 46,1 %, кількість двоядерних гепатоцитів знижена на 12,8 % проти контролю, ядерно-цитоплазматичне відношення зменшено на 11,2 %. У тварин групи R3+C3 ці показники склали відповідно: 52,9 %, 25,3 %, 22,3 % і 46,4 %.

Дослідження на ультраструктурному рівні виявило деформацію ядер і просвітлення нуклеоплазми, зменшення кількості мітохондрій, деструкцію ендоплазматичного ретикулуму, зменшення кількості рибосом і лізосом.

Аналіз хімічного складу печінки визначив збільшення кількості мікроелементів у органі: міді – на 3,2 %, марганцю – на 8,6 %, цинку – на 12,9 %, хрому – на 4,9 %, свинцю – на 8,1 % ( $P < 0,05$ ). Вміст води знизився на 22,7 %, органічних речовин – на 4,3 %, зольність органа підвищилася на 34,4 %.

## ВИСНОВКИ

1. У роботі проведено теоретичне узагальнення і вирішення наукової задачі з визначення мікроскопічних, морфометричних, ультраструктурних і метаболічних змін у печінці тварин, що відбуваються за дії іонізуючого випромінювання і підвищеного споживання солей важких металів. За дії цих екологічних чинників у органі розвиваються дистрофічні і деструктивні процеси на тлі розладів мікроциркуляції, ступінь яких залежить від дози радіації і терміну навантаження солями важких металів. Виявлені зміни в печінці можна використовувати за основу для обґрунтування засобів профілактики і корекції радіаційних і токсичних уражень печінки.

2. Іонізуюче випромінювання спричиняє у печінці судинні і паренхіматозні порушення, ступінь яких залежить від дози отриманої радіації. Дози 0,1 Гр і 0,2 Гр викликають помірні зміни на органному і клітинному рівнях. Ультраструктурна перебудова печінкових клітин свідчить про фізіологічну напругу, спрямовану на збереження клітинного пулу. Доза випромінювання 0,3 Гр індукує значні зміни гісто- та ультраструктури печінки. Структурно це визначається збільшенням об'єму ушкоджених гепатоцитів до 43,7 % у порівнянні з контролем, розвитком жирової і зернистої дистрофії, змінами мітохондрій з їх набуханням і зменшенням числа крист, розширенням цистерн гранулярного ендоплазматичного ретикулуму, зменшенням кількості рибосом і полісом, редукцією пластинчастого комплексу Гольджі.

3. Реакція печінкових клітин на дію іонізуючого випромінювання неспецифічна і проявляється розвитком жирової і зернистої дистрофії на фоні порушення мінерального метаболізму печінки. Паралельно з цим в органі індукуються регенеративні процеси, інтенсивність яких зменшується зі збільшенням дози радіації.

4. Під впливом дії іонізуючого випромінювання (0,1 Гр, 0,2 Гр) відбувається активізація адаптаційно-компенсаторних механізмів, спрямованих на ліквідацію пошкоджуючої дії, включається комплекс захисних механізмів: гіперплазія мітохондрій, компонентів цитоплазматичного комплексу Гольджі, мембран ендоплазматичної сітки в гепатоцитах і ендотеліоцитах. Зростає активність зірчастих ретикулоендотеліоцитів. Доза радіації 0,3 Гр спричиняла зміни, що переходили межу фізіологічної компенсації і вступали в деструктивну фазу.

5. Надходження в організм тварин солей важких металів призводить до розвитку більш істотних, ніж за дії іонізуючого випромінювання, змін, які переходять у деструктивні зі збільшенням терміну вживання хімічних сполук до 3 місяців. Проявами цих змін є маргінальна конденсація хроматину, зменшення крист мітохондрій і їх вакуолізація, зменшення кількості рибосом, деструкція мембран ендоплазматичної сітки, редукція комплексу Гольджі. Відмічається тенденція до розростання сполучної тканини і збільшення відносної маси печінки на

12,7-22,9 %. Ці зміни відбуваються на фоні відкладання солей важких металів у органі, його мінералізації (на 58,6-71,0 %) і зростаючої втрати вологості (на 10,9-17,1 %).

6. Сумісна дія іонізуючого випромінювання і підвищеного вживання тваринами сполук важких металів характеризується сумацією біоефектів з їх потенціюванням, що спричиняє розвиток у печінці більш істотних дистрофічних і деструктивних процесів, ніж за дії одного модельованого чинника. Комбінована дія радіації і солей важких металів спричиняє гальмування проліферативних процесів і зрив адаптаційно-компенсаторних механізмів. Ступінь розвитку морфофункціональних і метаболічних змін у печінці залежить від дози опромінення і тривалості навантаження солями важких металів. Ця залежність прямопропорційна.

7. Антиоксидант мексидол значно зменшує ушкоджуючу дію на печінку іонізуючого випромінювання в досліджуваних дозах і солей важких металів, стимулює проліферативні процеси за умови ізольованої дії одного фактора – радіації або підвищеного навантаження солями важких металів. Протекторна дія мексидолу за умови комбінованої дії цих екологічних чинників дещо нижча.

### **ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**

1. Отримані експериментальні дані доповнюють теоретичні знання щодо впливу малих доз іонізуючого випромінювання та солей важких металів на печінку і можуть бути використані у наукових дослідженнях і навчальному процесі.

2. Результати досліджень можна використовувати для патоморфологічного обґрунтування радіаційних і токсичних уражень печінки та їх прогнозування з урахуванням дози та терміну дії екологічних чинників.

3. Проведені експерименти можуть бути використані як моделі для пошуку нових гепатопротекторів і дають підставу рекомендувати антиоксидант мексидол для корекції радіаційного і токсичного пошкодження печінки.

### **СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. *Захлебаєва В.В.* Ультраструктура гепатоцитів під впливом малих доз іонізуючої радіації // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2004. – Т. 3, № 3. – С. 45-46.

2. *Захлебаєва В.В.* Вплив малих доз іонізуючого випромінювання на гістоструктуру печінки // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения: Тр. Крым. гос. мед. ун-та им. С.И.Георгиевского. – 2004. – Т. 140, ч. I. – С. 23-24.

3. *Сікора В.З., Захлебаєва В.В.* Ультраструктурні зміни гепатоцитів за дії іонізуючого випромінювання та солей важких металів // Вісник морфології. – 2005. - № 11 (1). – С. 71-74.

*(Здобувачем проведено експеримент, узагальнення результатів дослідження, підготовка статті до друку).*

4. Сікора В.З., Захлебаєва В.В. Вплив солей важких металів на морфологію печінки // Вісник Сумського державного університету. – 2005. – № 3 (75). – С. 5-9. *(Здобувачем проведено експериментальне дослідження, обробка результатів дослідження, підготовка статті до друку).*

5. Захлебаєва В.В. Зміни структури печінкових клітин під впливом іонізуючої радіації // Український морфологічний альманах. – 2005. – Т. 3, № 1. – С. 19-21.

6. Захлебаєва В.В. Морфофункціональні зміни печінки тварин за дії іонізуючого випромінювання і солей важких металів // Таврический медико-биологический вестник. – 2006. – Т. 9, №3. – С. 66-69.

7. Сікора В.З., Захлебаєва В.В. Корекція мексидолом морфофункціональних змін у печінці за дії радіації та солей важких металів // Вісник Сумського державного університету. – 2006. – № 2 (86). – С. 5-9. *(Здобувачем проведено експеримент, опис та узагальнення результатів).*

8. Захлебаєва В.В. Морфофункціональні зміни печінки під впливом солей важких металів // Матеріали науково-практичної конференції і пленуму Асоціації інфекціоністів України. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – С. 323-324.

9. Захлебаєва В.В. Вплив солей важких металів на печінку щурів // Матеріали III Всеукраїнської науково-практичної конференції викладачів, студентів та молодих вчених „Сучасні проблеми клінічної та теоретичної медицини”. – Суми: Ризоцентр СумДУ, 2004. – С. 30.

10. Захлебаєва В.В. Реакція печінки щурів на загальне опромінення // Матеріали VIII Міжнародної науково-практичної конференції „Наука і освіта 2005”. – Дніпропетровськ: Наука і освіта, 2005. – Т. 16. – С. 5-6.

11. Захлебаєва В.В. Комбінована дія іонізуючого випромінювання і солей важких металів на печінку // Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції викладачів, студентів та молодих вчених „Сучасні проблеми клінічної та теоретичної медицини”, присвяченої Дню науки в Україні. – Суми: Ризоцентр СумДУ, 2005. – С. 135-136.

12. Захлебаєва В.В. Динаміка ультраструктурних змін ендотеліоцитів синусоїдних капілярів печінки за дії екологічних чинників // Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів „Актуальні питання експериментальної та клінічної медицини, присвяченої Дню науки в Україні. – Суми: Ризоцентр СумДУ, 2006. – С. 16.



**Захлебаєва В.В. Морфофункціональні зміни печінки тварин за дії іонізуючого випромінювання і солей важких металів (анатомо-експериментальне дослідження).** – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія. – Кримський державний медичний університет ім. С.І. Георгієвського МОЗ України, Сімферополь, 2006.

Дисертація присвячена вивченню впливу іонізуючої радіації в малих дозах і солей важких металів на печінку щурів за умови ізолюваної дії цих чинників та їх комбінації. Морфофункціональні зміни печінки досліджували за допомогою світлової мікроскопії з морфометрією препаратів, електронної мікроскопії і хіміко-аналітичного аналізу. Встановлено, що іонізуюче випромінювання в дозах 0,1 Гр, 0,2 Гр і 0,3 Гр та навантаження тварин солями важких металів призводить до судинних розладів, розвитку жирової і зернистої дистрофії в печінкових клітинах з наступною деструкцією клітинних органел, зміни хімічного складу печінки. Ступінь і вираженість цих перетворень залежить від дози радіації і терміну навантаження солями важких металів. Застосування антиоксиданта мексидолу зменшує негативний вплив радіації і солей важких металів за умови їх ізолюваної дії на печінку. Протекторні властивості препарату знижуються в разі застосування комбінації цих екологічних чинників.

Результати дослідження впроваджені у навчальний процес кафедр анатомії людини медичних вузів України.

**Ключові слова:** печінка, іонізуюча радіація, солі важких металів, мексидол.

## **АННОТАЦИЯ**

**Захлебаева В.В. Морфофункциональные изменения печени животных под действием ионизирующего излучения и солей тяжелых металлов (анатомо-экспериментальное исследование).** – Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.01 – нормальная анатомия. – Крымский государственный университет им. С.И. Георгиевского МЗ Украины, Симферополь, 2006.

Диссертация посвящена изучению влияния малых доз ионизирующего излучения и солей тяжелых металлов на печень крыс при условии их изолированного и сочетанного действия и поиски путей коррекции морфофункциональных изменений, вызванных экологическими факторами.

Проведено комплексное исследование с использованием световой микроскопии с органо- и морфометрией препаратов, электронной микроскопии и химического анализа. Экспе-

римент проведен на 220 белых беспородных крысах-самцах массой 150-200 г. Подопытные животные были разделены на 5 серий:

I серия – комплексное исследование морфофункциональных изменений печени под влиянием общего облучения животных в дозах 0,1 Гр, 0,2 Гр и 0,3 Гр на установке „Rocus” с энергией квантов – 1,25 МэВ, мощность дозы – 60 Р/мин. (облучение 1 раз в неделю дозой 0,1 Гр); II серия – повышенное потребление животными солей тяжелых металлов в течение 1-го, 2-х и 3-х месяцев; III серия – комбинация ионизирующего излучения и солей тяжелых металлов в дозах и сроках, указанных в предыдущих двух сериях; IV серия – коррекция морфофункциональных изменений в печени антиоксидантом мексидолом; V серия – контрольные животные, разделенные на группы в зависимости от возраста (3-6 мес.).

Проведенными экспериментальными исследованиями установлено, что под влиянием ионизирующей радиации в печени крыс развиваются сосудистые нарушения с развитием стазов, престазов, расширением и полнокровием сосудов, что вызывает микроциркуляторные нарушения. Увеличивается относительная масса печени. Развивается жировая и зернистая дистрофия печеночных клеток. Изменяется химический состав печени за счет выведения микроэлементов. Наряду с этим происходит активизация адаптационно-компенсаторных процессов, о чем свидетельствует гиперплазия гранулярной эндоплазматической сетки, гипертрофия комплекса Гольджи и набухание митохондрий.

При повышенном употреблении животными солей тяжелых металлов микроциркуляторные нарушения более глубокие. Дистрофические изменения развиваются быстрее, чем при действии низких доз радиации. В печеночных клетках появляется мелкоочаговая деструкция мембран эндоплазматической сетки, наружных мембран и крист митохондрий, ядерной мембраны, частичная редукция комплекса Гольджи. Увеличивается содержание в печени химических элементов, поступающих извне.

Результатом сочетанного действия моделированных экологических факторов был переход дистрофических изменений в деструктивные, о чем свидетельствует деструкция оргanelл и некробиоз части клеток. Морфофункциональные изменения более выражены, чем при действии только одного фактора, то есть наблюдается синергичный эффект. Решающая роль в комплексном влиянии принадлежит солям тяжелых металлов, негативное действие которых усиливается ионизирующим излучением. Резко угнетаются пролиферативные процессы в печени.

Введение экспериментальным животным мексидола уменьшает повреждающее действие низких доз ионизирующего излучения и солей тяжелых металлов при их изолированном действии. Негативное влияние на печень комбинированного действия этих факторов препарат снижает умеренно.

**Ключевые слова:** печень, ионизирующее излучение, соли тяжелых металлов, мексидол.

## ANNOTATION

**Zakhlebayeva V.V. Morphofunctional alterations of animal's liver under ionizing radiation and heavy metals salts (anatomic and experimental study).** - Manuscript.

Dissertation for the degree of Candidate of Medical Science in speciality 14.03.01 – Normal anatomy. –The Crimean State Medical University named after S.I.Georgievsky MPH of Ukraine, Simferopol, 2006.

The dissertation is concerned with study of ionizing radiation effect in small doses as well, as heavy metals salts on rats liver in circumstances of an isolated action of these factors and their combinations. Morphofunctional alterations in a liver were studied with the aid of light microscopy along with preparations morphometry, electron microscopy and chemical and analytical analysis. Thus they have found that ionizing radiation in doses of 0,1 Gr, 0,2 Gr, 0,3 Gr and saturation of animals with heavy metals salts produce change in a liver's sizes, microcirculation disorders, progress of grainy and fatty dystrophy in liver cells, accompanied by destruction and changes in a liver chemical composition. The degree of manifestation of these transformations depends on radiation dose and time of heavy metals salts saturation. The employment of mexidolum antioxidant reduces a detrimental effect of radiation and heavy metals salts assuming their isolated action on a liver. Protective capabilities of the preparation are impaired when the combination of these ecological factors is used.

The results of study are introduced into educational process of normal Human anatomy departments in medical schools of Ukraine.

**Key words:** liver, ionizing radiation, heavy metals salts, mexidolum.