 Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ’Я УКРАЇНИ

ІВАНО-ФРАНКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**Кулинич Галія Богданівна**

УДК 616.36+611-018+611-013+616-053.2

**МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ**

**ПІД ВПЛИВОМ ПЕСТИЦИДУ 2,4-Д АМІННОЇ СОЛІ (ДИХЛОРФЕНОКСИОЦТОВОЇ КИСЛОТИ) ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ГЛУТАРГІНОМ**

14.03.09 – гістологія, цитологія, ембріологія

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Івано-Франківськ - 2009

Дисертацією є рукопис

Робота виконана в Івано-Франківському національному медичному університеті МОЗ України

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор

**ГЕРАЩЕНКО Сергій Борисович,**

Івано-Франківський національний медичний університет

МОЗ України, кафедра гістології, цитології та

ембріології, завідувач кафедри

**Офіційні опоненти:** доктор медичних наук, професор

**ЛУЦИК Олександр Дмитрович,**

Львівський національний медичний університет

імені Данила Галицького МОЗ України,

кафедра гістології, цитології та

ембріології, завідувач кафедри

доктор медичних наук, професор

**ГОЛОВАЦЬКИЙ Андрій Степанович,**

Ужгородський національний університет

МОН України, кафедра анатомії людини та гістології,

завідувач кафедри

Захист відбудеться “12” червня 2009 року об 11 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 20.601.02 при Івано-Франківському національному медичному університеті МОЗ України (76018, м. Івано-Франківськ, вул.Галицька,2).

Із дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Івано-Франківського національного медичного університету МОЗ України (76018, м. Івано-Франківськ, вул.Галицька,7).

Автореферат розісланий “\_8\_” травня 2009 року

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради Д 20.601.02,

кандидат медичних наук, доцент О.Г.Попадинець

### ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

### Актуальність теми. **Надмірне використання шкідливих і загрозливих для здоров’я людини різного роду хімічних сполук, у тому числі пестицидів, є однією з причин стійкого погіршення екологічної ситуації в Україні. Світовий досвід доводить, що застосування ксенобіотиків для захисту рослин у сільському господарстві призводить до несприятливого впливу даних речовин на здоров’я працівників і тому велика увага повинна приділятись умовам їх праці (Проданчук Н.Г. и др.,2004, Кириченко В.І та інші, 2004, Кірсенко В.В., 2005). Найчастіше пестициди потрапляють до організму людини з продуктами харчування (у 95%). До найпоширеніших пестицидів, які використовуються в сільському господарстві, належать препарати групи 2,4-Д та інші, які здатні викликати негативні наслідки, і накопичуючись навіть у невеликих кількостях, мають високу біологічну активність (Черных А.М., 2003).**

Щодо впливу пестициду 2,4-Д (П 2,4-Д) на структурні компоненти печінки, із літератури відомо, що ця речовина має токсичну дію на стан гепатоцитів і гемомікроциркуляторного русла (Гурняк О.М. та інші, 2007). Окремі питання щодо токсичного впливу П 2,4-Д на морфо-функціональний стан печінки залишаються маловивченими.

Глутаргін, вітчизняний лікарський препарат, у складі якого містяться солі двох амінокислот - аргініну й глутамінової кислоти, має детоксикуючий ефект. При гострому і хронічному гепатитах він суттєво знижує прояви клінічних симптомів інтоксикації, у багатьох випадках попереджує патологічні зміни структури печінки, зменшує деструкцію і некроз, активує регенераторні процеси в ураженому органі (Чайка Л.А. и др., 2000, Меркулова Ю.В. та інші, 2004). За умов гострого токсичного пошкодження печінки доведено, що глутаргін є ефективним засобом органопротекції з вираженими анти­оксидантними властивостями (Тимченко О.Г. та інші, 2006).

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана згідно з планом наукових робіт Івано-Франківського національного медичного університету і є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи на тему: “Морфо-функціональний стан органів травної, центральної та периферійної нервової систем за умов впливу токсичних факторів (малі дози радіації, пестициди, кадмій, хіміопрепарати)” (№ держреєстрації 0102U001009). Здобувач є виконавцем фрагменту.

**Мета і завдання дослідження.** Встановити особливості морфо-функціональної перебудови печінки під впливом пестициду 2,4-Д амінної солі (дихлорфеноксиоцтової кислоти) та за умов корекції токсичних порушень глутаргіном в експерименті.

**Задачі дослідження**:

1. Дослідити гістологічні, морфометричні, гістохімічні та ультраструктурні зміни гепатоцитів під дією П 2,4-Д.

2. Вивчити функціональні зрушення в печінці в динаміці розгортання пошкоджувальних процесів за впливу П 2,4-Д.

3.Встановити закономірності перебігу реактивних, альтеративних і компенсаторно-пристосувальних процесів у морфогенезі П 2,4-Д-індукованої гепатоксичності.

4.Проаналізувати вплив глутаргіну на структури печінки при одночасному введенні П 2,4-Д і глутаргіну.

5.Оцінити результати корекції стану печінки глутаргіном при його внутрішньошлунковому введенні на тлі пестицидної інтоксикації.

6.Вивчити морфо-функціональний стан печінки при корекції пестицид-індукованої токсичності внутрішньоочеревинним введенням глутаргіну.

*Об’єкт дослідження*: зміни гістоструктури печінки білих рандомбредних щурів, в яких моделювали пестицид-індуковану гепатотоксичність і коригували її глутаргіном.

*Предмет дослідження:* оцінка ефективності корекції глутаргіном при його введені різними способами морфо-функціональних змін печінки, які розвинулись у динаміці введення П 2,4-Д.

*Методи дослідження:* гістологічне і морфометричне дослідження зрізів печінки, гістохімічне виявлення в гепатоцитах активності сукцинатдегідрогенази (СДГ) і кислої фосфатази (КФ), електронномікроскопічне дослідження гепатоцитів (Гц) і синусоїдних гемокапілярів (СГ) печінки, біохімічне визначення в сироватці крові активності аланін- і аспартатамінотрансферази (АСТ і АЛТ), лужної фосфатази (ЛФ), вмісту дієнових кон’югатів, малонового альдегіду, церулоплазміну, каталази.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше представлений морфогенез токсичного впливу П 2,4-Д на тканини печінки. Детально описані структурні і біохімічні зміни Гц та стінки СГ на тлі моделювання П 2,4-Д–індукованої гепатотоксичності.

Новими є результати морфометричного дослідження Гц (площа профілю клітин та їх ядер, співвідношення площ профілю ядра до площі профілю Гц, коефіцієнт форми Гц та їх ядер) із використанням кореляційного аналізу для об’єктивної оцінки розгортання реактивних, адаптаційних і компенсаторних процесів у печінці під дією П 2,4-Д.

Доведено, що одночасне застосування глутаргіну в поєднанні з введенням П 2,4-Д внутрішньошлунково мало позитивний вплив на морфо-функціональний стан печінки, але не досягало завершеності і виявляло зрив адаптаційних можливостей із 21-ї доби досліду.

Уперше визначено позитивні коригувальні ефекти глутаргіну та їх недоліки за внутрішньошлункового і внутрішньоочеревинного застосування препарату на моделі пестицидної інтоксикації в щурів.

Новизною вирізняється комплексність підходу до визначення морфо-функціонального стану печінки за умов її токсичного пошкодження (комп’ютерний морфометричний аналіз Гц у поєднанні з гістоензиматичним та ультрамікроскопічним дослідженням), визначення основних біохімічних параметрів крові, оцінка стану процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) і антиоксидантної системи (АОС) організму.

**Практичне значення одержаних результатів.** Отримані результати привертають увагу до гепатотоксичності П 2,4-Д, яка може виникнути в працівників сільського господарства при використанні цієї речовини в обробці рослин чи при недотриманні правил техніки безпеки при роботі з ними.

Проведені дослідження патогенетично обгрунтовують необхідність використання гепатопротекторів із метою ослаблення токсичної дії П 2,4-Д на печінку.

Застосування глутаргіну одночасно з введенням П 2,4-Д викликало короткотривалу дію і з 21-ї доби наступав зрив адаптаційних можливостей печінки. Внутрішньошлункове введення глутаргіну на тлі токсичного пошкодження печінки П 2,4-Д проявилося позитивним ефектом, який тривав до 30-ї доби (протягом введення глутаргіну). Внутрішньоочеревинне застосування глутаргіну мало позитивний вплив на морфо-функціональний стан печінки, який досягав максимуму на 7-у добу і тривав до 21-ї доби (тобто 2 тижні після останнього введення глутаргіну).

На підставі проведеного дослідження можна передбачити зміни в печінці і організмі людини, що піддалися впливу П 2,4-Д, і розробити схеми корекції токсичного ураження печінки глутаргіном із метою усунення виниклих пошкоджень.

**Впровадження результатів дослідження.** Матеріали дисертації впроваджені і використовуються в навчальному процесі на лекціях і практичних заняттях на кафедрах гістології, цитології та ембріології Національного медичного університету ім. О.О.Богомольця, Львівського національного медичного університету ім.Данила Галицького, Донецького національного медичного університету ім.М.Горького, Харківського національного медичного університету, Івано-Франківського національного медичного університету, Кримського державного медичного університету ім.С.І.Георгієвського, Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я.Горбачевського, Луганського державного медичного університету та Одеського державного медичного університету.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертація є особистою науковою працею здобувача. Автор самостійно провела інформаційно-патентний пошук, визначила мету і завдання дослідження, провела експериментальні дослідження, забрала матеріал для мікроскопічного і електронномікро­скопічного дослідження. Здобувач самостійно виконала морфометричні дослідження. Електронномікроскопічні дослідження автор виконала в лабораторії електронної мікроскопії на кафедрі анатомії людини, а біохімічні дослідження – на кафедрі біологічної і медичної хімії Івано-Франківського національного медичного університету самостійно. Статистична обробка даних, їх науковий аналіз, оформлення дисертаційної роботи виконані здобувачем самостійно. Автор сформулювала основні положення роботи, забезпечила впровадження результатів дослідження в практику. Висновки сформульовані разом із керівником. У наукових працях, що опубліковані в співавторстві, участь здобувача є визначальною.

**Апробація результатів дослідження.** Основні положення та результати роботи оприлюднені на ІІ міжнародній мед.-фарм. конференції студентів і молодих вчених (79-й науковий форум студентів і молодих вчених, Чернівці, 2005), ІV Національному Конгресі анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів (Сімферополь,2006), конференції “Актуальні питання вікової анатомії та ембріотопографії” (Чернівці,2006), науковій конференції молодих вчених із міжнародною участю “Актуальні проблеми геронтології та геріатрії”, присвяченої пам’яті академіка В.В.Фролькіса (Київ,2006), VI Міжнародному Конгресі з інтегративної антропології (Вінниця, 2007), науково-практичній конференції “Досвід і проблеми сучасних морфологічних методів дослідження органів і тканин у нормі та при діагностиці патологічних процесів” (Тернопіль,2007), науково-практичній конференції “Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень” (Тернопіль,2008).

**Публікації результатів дослідження.** Результати дисертації опубліко­вані в 10 наукових роботах: 6 статей у фахових виданнях (2 - одноосібні), 4 - у тезах матеріалів конференцій.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація викладена українською мовою на 147 сторінках основного тексту і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, двох розділів власних досліджень, аналізу та обговорення одержаних результатів, висновків та додатків. Список джерел містить 263 праці, із них 227 – кирилицею і 36 латиницею. Робота ілюстрована 41 таблицею і 109 рисунками.

## *ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ*

Матеріал і методи дослідження. Експерименти були проведені на 121 білому рандомбредному щурі-самці (*Rattus Norvegicus L*.) масою 150-180 г (5 груп). Тривалість експерименту від 3 до 60 діб.

Щурам першої групи (24 тварини) вводили комерційний препарат 2,4-Д 700 – ефективний гербіцид на основі 2,4-Д диметиламінної солі, внутрішньошлунково (у дозі 1/10 DL50) через день протягом 14 діб (7 введень).

Другій групі (24 тварини) вводили П 2,4–Д та глутаргін одночасно, внутрішньошлунково: пестицид 2,4-Д – 7 введень через день і 14 щоденних введень глутаргіну. Глутаргін продовжували вводити щодня до 30 доби досліду.

24 тваринам третьої групи вводили П 2,4-Д (14 діб) і після цього глутаргін (таблетована форма) у дозі 1,6 мг/кг маси внутрішньошлунково протягом 30 діб, щодня після останнього введення пестициду.

Четверта група (24 тварини): протягом 14 діб вводили П 2,4–Д внутрішньошлунково через день. У наступні 5 діб щодня внутрішньо­очеревинно вводили 4% розчин глутаргіну по 1,7 мл кожній тварині (застосування згідно інструкції).

П’ята група (18 тварин) – контрольна, тварини отримували по 0,5 мл дистильованої води інтрагастрально – через день, протягом 30 діб. Для встановлення біохімічних показників за умов норми було використано 7 тварин.

Усі тварини знаходилися в стандартних умовах віварію. Утримання щурів та маніпуляції, які з ними проводилися, відповідали “Загальним етичним принципам експериментів на тваринах”, ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001р.). Тварини дослідних і контрольної груп (К) утримувались в ідентичних умовах і матеріал, взятий від них для дослідження, оброблявся паралельно. Тварин виводили з експерименту шляхом передозування ефірного наркозу. Шматочки печінки фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, зрізи забарвлювали гематоксиліном і еозином.

Морфометричне дослідження проводили з використанням аналізатора зображень на базі програмного забезпечення UTHSCSA Image Tool® for Windows® (version 2.00) в інтерактивному режимі з застосуванням об’єктива х40 і фотоокуляра х1,7. Аналізатор зображень калібрували тестовим зразком “МИРА” (ГК 7.216.028-01, виробництво НДІ “Квант”). В інтерактивному режимі вимірювали площу (Sh) Гц і ядра (Sn) Гц та їх периметри. Обчислювали відношення Sn/Sh, коефіцієнти форми Гц (Fh) і його ядра (Fn) (F=P2/4pS, де Р – периметр, S – площа досліджуваного об’єкта) (В.Л.Исаков и др., 1988). У кожному препараті вимірювали метричні показники всіх одноядерних Гц, які містили ядерце.

Мікрофотографії отримані за допомогою мікрофотонасадки МФН-10 (гомаль 1,7), перехідного оптичного пристрою Optem 257010 та цифрової камери Nikon Coolpix 5400. Реальне збільшення на мікрофотографіях складає, відповідно, для об’єктивів х10 – х150, х25 – х375, х40 – х600.

Електронномікроскопічне дослідження печінки проводили згідно загальноприйнятих положень за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ – 125К із наступним фотографуванням при збільшенні від 4800 до 16000 разів.

Гістохімічне дослідження ферментів – СДГ і КФ – проводили за методами Берстона (З.Лойда и др., 1982). Активність оцінювали напівкількісним методом у балах, враховуючи досвід О.Д.Мишнева і співавт. (1986): 0 балів – відсутність активності, 1 бал – поодинокі гранули з забарвленим продуктом реакції, слабе дифузне забарвлення, 2 бали – невелика кількість гранул, переважає дифузне забарвлення, 3 бали – гранули локалізовані біля одного з полюсів клітини на тлі дифузного забарвлення, 4 бали – клітина заповнена гранулами нерівномірно, слабе дифузне забарвлення, 5 балів – дуже висока активність, цитоплазма клітини рівномірно заповнена великою кількістю гранул.

Для оцінки функціонального стану печінки, визначали активність органоспецифічних ферментів – АСТ, АЛТ, ЛФ у сироватці крові тварин за допомогою стандартних наборів фірми “Філісіт-Діагностика”. Визначали маркери інтенсивності ПОЛ та показників стану АОС: вміст ТБК-продуктів (малонового альдегіду) – за методом Е.Н. Коробейникової (1989); рівня дієнових кон’югатів – за модифікацією В.Б.Гаврилова і співавт. (1988); каталази – за А.Н.Бахом і співавт. (1999); церулоплазміну - за модифікацією Г.О.Бабенка (1999).

Для обчислення похідних параметрів і коефіцієнтів використовували електронні таблиці Microsoft® Excel 2000. Статистичний аналіз проводили за допомогою комп’ютерної системи STATISTICA for Windows® методами параметричної статистики з використанням t-критерію Стьюдента для оцінки достовірності відмінності між значеннями метричних показників попарно вибраних груп та кореляційного аналізу з використанням коефіцієнта кореляції Пірсона. Різницю вважали вірогідною при p<0,05.

**Результати досліджень та їх обговорення.** *Морфо-функціональні зміни печінки щурів під впливом пестициду 2,4-Д.* У тварин першої групи на кінець 3-ї доби введення П 2,4-Д Гц мали набряклу, слабобазофільну цитоплазму, ядра різних розмірів. Між Гц розрізнялися поодинокі лімфоцити і їх невеликі групи. У печінці щурів К групи виявили набряк Гц та звуження просвіту СГ у І зоні.

Морфометричний аналіз на 3-ю добу показав збільшення кількості Гц із Sh>260,01 мкм2 та зменшення із Sh=140,01-220,00 мкм2. Кількість Гц із Sn=10,01-35,00 мкм2 зменшувалася, а із Sn>35,01 мкм2 – зростала. Гістограма розподілу клітин за Sn мала унімодальний тип (пік – 40,01-45,00 мкм2). Коефіцієнт кореляції (r) між показниками Sn і Sh зменшився до 0,496 (К – r=0,520, р<0,05), між Sn/Sh і Sh значно зріс – r=-0,539 (К – r=-0,279, p<0,05). В 1,5 рази збільшилася частка деформованих Гц із Fh>1,25. У 2,3 рази зменшилася кількість Гц із округлими ядрами (Fn від 1,05 до 1,15) і збільшилася – із деформованими (Fn понад 1,16, р<0,05).

Активність СДГ була найменшою в І і ІІ зонах печінкової часточки. Гранули осаду локалізувалися в цитоплазмі Гц нерівномірно. Активність КФ незначно підвищилася в ІІ і ІІІ зонах, дрібні гранули осаду містилися в цитоплазмі рівномірно на тлі її дифузного брунатного забарвлення.

Електронномікроскопічне дослідження Гц виявило інвагінації ядер окремих Гц із розширеною цистерною ядерної оболонки. Цитоплазма Гц набрякла, вакуолізована (вміст вакуолей – прозорий, пластівцеподібний чи ліпідний). Плазмолема судинного полюсу Гц часто була зруйнована. Цистерни гладкої ендоплазматичної сітки (ЕС) сплощені. У мітохондріях (М) - гомогенізація матриксу і фрагментація крист. Біля М містилися сплощені кільцеподібні цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС) і редуковані компоненти комплексу Гольджі (КГ). Біля ядер виявлялися лізосоми, пероксисоми, поодинокі гранули ліпофусцину. Периферійні ділянки ендотеліоцитів СГ потоншені, пори розширені. Через руйнування стінки СГ еритроцити місти­лися біля органел Гц. Між ними спостерігалися макрофаги. Простір Діссе вузький.

На 7-у добу виявлялася “мозаїчна” картина пошкодження – часточки з вираженою дискомплексацією пластинок межували з незначно зміненими. СГ нерівномірно розширені. Гц в стані дрібновакуольної дистрофії з набряклою, зернистою цитоплазмою, окремі - у стані некрозу. Усередині часточок і в перипортальних трактах лімфо-плазмоцитарна інфільтрація. У портальних трактах наявні 2-3 жовчні протоки, що разом із підвищеним рівнем ЛФ є ознакою цитолізу і холестазу (О.Я.Бабак та ін., 2004).

Морфометричне дослідження Гц на 7-у добу показало збільшення кількості Гц із Sh понад 320,00 мкм2 і з великою Sn. Пік Sn/Sh зсунувся до 0,06-0,15. КЗ між Sn/Sh і Sh посилилася (r=-0,687, p<0,05), що свідчить про поєднання набряку ядра і цитоплазми з переважанням останнього в клітинах великого діаметру.

Активність СДГ зменшилася в Гц І зони до (1,65±0,13) балів, ІІ зони - до (1,85±0,18) балів і ІІІ зони - до (2,40±0,17) балів (р<0,05). У цитоплазмі Гц переважала дрібна зернистість із окремими великими гранулами. Активність КФ збільшувалася.

Електронномікроскопічно в Гц: навколоядерний набряк цитоплазми з ділянками ущільнення (“гелізація”), гранули ліпофусцину, ліпідні вакуолі середніх та великих розмірів. Ядра великі, світлі. Їх стан разом із морфометричними показниками свідчить про їх токсичне набухання (Хесин Я.Е., 1967). М виявляли деструкцію крист і зовнішньої мембрани на окремих ділянках. На думку деяких дослідників, альтерація М під дією П 2,4-Д є типовим явищем (Palmeira С.М. e.a., 1994). Цистерни ГЕС були сплощені і вогнищево дегранульовані. Люменальна плазмолема ендотеліоцитів мала нечіткі контури. Тобто, П 2,4-Д проявляє мембранотоксичну дію на плазмолему і мембранні органели Гц із порушенням біліпідного шару мембран (Oruc E. O., Uner N.,2000).

На 14-у добу центральні вени печінкових часточок повнокровні, навколо деяких - групи лімфоцитів. У просвіті СГ – стаз крові. У Гц, переважно І зони, визначалася крупновакуольна дистрофія, набряк, некроз. У сполучній тканині портальних трактів інфільтрація макрофагами і лімфоцитами. Судини печінкових тріад мали звужені просвіти.

Морфометричний аналіз показав зменшення кількості дрібних і великих Гц. Гістограма за Sh мала багатовершинний тип із різким зміщенням вправо. Зросла кількість Гц із Sn>50,01 мкм2. Тип гістограми за Sn змінився на бімодальний. Зріс вміст великих Гц із малими ядрами (Sn/Sh = 0,05 - 0,15). КЗ між Sn/Sh і Sh r = -0,577, p<0,05. Збільшилася кількість деформованих Гц (Fh >1,26), а їх гістограма змінилася на бімодальну. Тобто, зміни форми Гц і його ядра, виявлені на гістопрепаратах, підтвердилися морфометрично.

Активність СДГ у Гц І зони часточки зменшилася, а ІІ і ІІІ зон незначно зросла. Активність КФ у Гц І і ІІ зон зростала, тоді як у ІІІ зоні не змінилася, порівняно з 7-ю добою. Гранули продукту реакції локалізувалися в цито­плазмі Гц нерівномірно і виявлялися за межами Гц як великі конгломерати.

Електронномікроскопічне дослідження Гц виявило картину, подібну до 7-ї доби. Судинні полюси Гц мали вогнищеві прояви деструкції і порушення плазмолеми. Простір Діссе був нерівномірно розширеним і містив невелику кількість мікроворсинок Гц. На думку В.В.Серова, К.Лапиша (1989), такі прояви є типовими для токсичного пошкодження Гц.

На 21-у добу збереглася дискомплексація печінкових пластинок. СГ ІІІ зони нерівномірно розширені з адгезованими до люменальної плазмолеми ендотеліоцитів еритроцитами. Цитоплазма Гц І зони містила великі вакуолі, ІІ зони – багато поліморфних вакуолей , ІІІ зони – дрібні вакуолі, подекуди Гц з ознаками некрозу і паранекрозу. У портальних трактах визначалася лімфо-макрофагальна інфільтрація. Цитоплазма Гц у К групі містила дрібну зернистість в усіх зонах часточок.

Морфометрично виявлялися тенденції попередніх термінів досліду з порушенням Sn/Sh, що підтверджує пошкодження функціонального стану Гц, і можливо, із 30-ї доби починають проявлятися ознаки адаптивного збільшення Sn (И.В.Збарский, 1998). Ступінь деформації Гц незначно залежав від їх площі (r = 0,012, p<0,05). Збільшилася кількість Гц із Fn=1,05-1,15 і зменшилася - із Fn понад 1,16 (p<0,05).

Найвищою була активність СДГ у Гц ІІІ зони і найменшою - І зони. У цитоплазмі Гц з’явилися дрібні гранули біля їх полюсів. Активність КФ становила в І зоні (2,54±0,16) балів, р<0,05, у ІІ – (2,40±0,12) балів, р<0,05, у ІІІ – (2,28±0,19) балів, р<0,05.

Електронномікроскопічно: набряк, менш ущільнена, порівняно з 14-ю добою, цитоплазма Гц, в якій присутні ліпідні і прозорі вакуолі різних розмірів, лізосоми, автофагосоми. Ядра Гц мали інвагінації каріолеми, грудочки гетерохроматину. У судинному полюсі Гц часто містилися групи ліпідних вакуолей, просвітлених М, дезорганізованих і дегранульованих цистерн ГЕС. В окремих дрібних М визначалися тонкі, короткі кристи (“молоді” М). Тобто з’являлись ознаки адаптаційних і компенсаторних процесів. Диктіосоми КГ мали розширені цистерни, пухирцевий компонент слабо виражений. Стінка СГ потоншена. Між ендотеліоцитами вкраплювалися макрофаги з глибокими інвагінаціями плазмолеми.

На 30-у добу в Гц виявлялися дистрофічні зміни. Їх цитоплазма набрякла, вакуолізована. Просвіти СГ І зони розширені, а ІІ зони – помірно і ІІІ зони - значно звужені через набряк Гц. У часточках визначалися дрібні лімфо-плазмоцитарні інфільтрати. Сполучна тканина портальних трактів помірно інфільтрована лімфоцитами. Морфометрично, як і на 14-у добу, зберігалися збільшені в розмірах Гц і пряма КЗ між Sn та Sh (r=0,501, p<0,05). Гістограма за Sn змінилася з унімодальної на асиметричну (3 піки), що може свідчити за процеси поліплоїдизації в ядрах (Бродский В.Я., 1981).

Активність СДГ підвищилася – гранули стали більшими. Локалізація продукту реакції на КФ незначно відрізнялася від 21-ї доби.

Електронномікроскопічно: помірний набряк цитоплазми Гц і токсичні пошкодження органел, які були зсунуті до навколоядерної зони. Ядра Гц великі, в ядерцях переважав фібрилярний компонент. У просвіті СГ - сладжі. Через деструкцію судинного полюсу багатьох Гц їх окремі органели знаходилися поблизу стінки СГ.

На 60-у добу центральні вени наближені одна до одної. У цитоплазмі Гц - прояви зернистої і вакуольної дистрофії. У портальних трактах на тлі товстих пучків колагенових волокон спостерігалися фібробласти, лімфоцити і невелика кількість макрофагів.

Від 30-ї до 60-ї доби прослідковувалася тенденція до збільшення числа Гц із малою Sh. Тип гістограми за Sh змінився на багатовершинний. Вміст ядер із Sn<30,00 мкм2 зріс, але не досягав К. Залишалася збільшеною кількість Гц із великими ядрами. Зросло число деформованих Гц (Fh=1,26-1,30). Виявлені нами морфометричні зміни Гц підтверджують гепатотоксичний ефект П 2,4-Д (Т.К.Константинова и др.,1986).

В активності СДГ і КФ за локалізацією і кількістю забарвленого продукту зберігався рівень 30-ї доби.

Електронномікроскопічно в навколоядерній зоні Гц спостерігали М з короткими кристами, помірно щільним матриксом, частковою деструкцією внутрішньої мембрани. У цитоплазмі траплялися ліпідні вакуолі, лізосоми. Цистерни ГЕС дегранульовані. У просвіті СГ сладжі. Просвіт Діссе звужений. Мембрана судинного полюса Гц вогнищево пошкоджена, мікровор­синки відсутні.

Біохімічні дослідження крові тварин показали, що активність АСТ на 7-у добу введення П 2,4-Д збільшилась у 2,83 рази, АЛТ – у 1,80 рази, ЛФ – у 5,24 рази. На 14-у добу активність АСТ зросла до (1,81±0,03) мкмоль/год.л (р<0,05), а активність АЛТ і ЛФ залишилася високою. На 30-у і 60-у доби (відповідно 14 і 45 діб після останнього введення П 2,4-Д) активність АСТ і АЛТ зменшилася, порівняно з 14-ю добою, але була вірогідно збільшеною відносно К. Активність ЛФ незначно зменшилася.

У крові тварин на 7-у добу показники ПОЛ (вміст малонового альдегіду і дієнових кон’югатів) зросли, а активність церулоплазміну і каталази (АОС) значно зменшилися. На 14-у добу зміни показників ПОЛ досягли найвищого рівня, активність церулоплазміну зменшувалася, а каталази- підвищувалася, порівняно 7-ю добою. На 30-у і 60-у доби вміст малонового альдегіду і дієнових кон’югатів помірно зменшувався. Активність церулоплазміну продовжувала зменшуватися, а каталази поступово зростала. Виявлені порушення показників ПОЛ та АОС при хронічних захворюваннях печінки пов’язані з ушкодженням ліпідних компонентів біомембран (Гончарук Є.Г., 2004).

На підставі одержаних результатів ми стверджуємо, що в сукупності морфо-функціональні зміни паренхіми і строми печінки можна охарактеризувати як хронічний токсичний гепатит, який потребує корекції гепато­протекторами.

*Структура печінки при одночасному введенні глутаргіну і П 2,4-Д*. В експерименті з одночасним введенням П 2,4-Д і глутаргіну на 3-7-і доби Гц набряклі з глибокими дистрофічними пошкодженнями. На 7-у добу в І та ІІ зонах з’являлися Гц з двома ядрами. СГ мали неоднаковий просвіт і сладжі. У часточках і портальних трактах лімфо-плазмоцитарна інфільтрація. Морфометрично виявлено збільшення кількості дрібних і зменшення частки великих Гц. Зменшувалася кількість деформованих Гц (Fh=1,31-1,40). Між Fh і Sh обернена КЗ змінилася на пряму. Гістограми за Sn, Sh, Sn/Sh, Fh і Fn мали унімодальний тип. Активність СДГ Гц залишалася низькою в Гц усіх зон, а КФ дещо зросла.

На 14–у добу зміни в часточках „мозаїчні”. У І зоні часто виявлялися двоядерні Гц. СГ нерівномірно розширені з чітко окресленими макрофагами. Помітно зрослa кількість Гц із Sh >280,01 мкм2 і відсоток ядер із Sn до 40,00 мкм2. КЗ між Sn/Sh і Sh зменшилася (r=-0,435, p<0,05). Розподіл Гц за Fh наблизився до К. Посилилася деформація великих Гц. Активність СДГ в Гц незначно зросла, а КФ мало змінилася від 7-ї доби.

На 21–30-і доби експерименту відзначалася поступова нормалізація гістологічної будови та морфометричних показників Гц, однак повного відновлення структурно-функціональної організації органа не відбувалося. Через 30 діб цитоплазма Гц була вакуолізованою і зернистою. Серед них траплялися Гц з двома ядрами (прояви регенерації Гц). Просвіти СГ широкі в усіх зонах. Портальні тракти інфільтровані лімфоцитами і плазмоцитами. З’явилися Гц із великою Sh. Зменшувалося число Гц із дрібними ядрами. Активність СДГ в Гц була високою в усіх зонах, а при реакції на КФ переважала дифузна дрібна зернистість.

Через 2 міс повернулися ознаки токсичного пошкодження Гц: втрата чіткості меж між ними, набряк і вакуолізація цитоплазми. Непропорційне зменшення Sh і Sn призвело до порушення показника Sn/Sh. Bодночас зросло число деформованих ядер.

Таким чином, застосування глутаргіну з метою попередження пошкодження печінки при введенні його одночасно з П 2,4-Д не досягло поставленої мети – повноцінної корекції стану печінки не відбулося, а у віддаленому терміні спостерігалися прояви зриву стабільності гістологічної, гістохімічної і морфометричної картин органа.

*Морфо-функціональний стан печінки при внутрішньошлунковому введенні глутаргіну на тлі токсичного впливу П 2,4-Д****.*** На 3-7-і доби від початку корекції глутаргіном (після введення П 2,4-Д) межі печінкових часточок розрізнялися добре. Просвіти СГ деформовані. Гц різнилися розмірами, часом містили зморщені ядра. Виявлялися Гц з фігурами мітозу. Гц І і ІІ зон мали ознаки крупновакуольної дистрофії. У гістограмах Гц за Sh, Sn, Sn/Sh, Fh і Fn і КЗ між ними виявлено незначні зміни, порівняно з такими до початку корекції. Активність СДГ у Гц зросла, а КФ – зменшилася.

Через 14 діб зміни в Гц поліморфні, їх ядра округлі. У І та ІІ зонах виявлялися двоядерні Гц. Цитоплазма Гц І і ІІ зон вакуолізована (у ІІІ зоні вакуолей менше). СГ нерівномірно розширені. Інтралобулярна та портальна лімфо-плазмоцитарна інфільтрація помірні. Морфометрично відбулося зростання вмісту Гц із великою Sh і Sn та зменшення - із малими розмірами. КЗ між Sn і Sh (r=0,654, у К r=0,520, p<0,05) та між Sn/Sh і Sh (r= -0,516, у К r= -0,279, p<0,05) посилилася. Зменшувалася кількість деформованих ядер. Активність СДГ в Гц зростала, а КФ – повільно знижувалася.

На 21-у добу більшість часточок мали типову цитоархітектоніку. У цитоплазмі Гц – прояви зернистої і дрібновакуольної дистрофії. В усіх зонах часточок спостерігалися двоядерні Гц. СГ І зони помірно звужені. Лімфоцитарні інфільтрати не виявлялися. Гістограма Гц за Sh стала бімодальною. Велика кількість Гц за Fh і Fn наблизилася до К. Активність СДГ в Гц І зони зросла майже вдвічі, у ІІ і ІІІ зоні - помірно. Активність КФ мала тенденцію до подальшого зниження.

Через 30 діб у більшості часточок зберігалася помірна лімфоцитарна інфільтрація. У цитоплазмі Гц виявлялися дрібні вакуолі. У метричних показниках Гц відбулися зміни, протилежні до таких на 14-21-і доби: у великій кількості визначались Гц з Sh >260,01 мкм2 і ядра із Sn до 30,00 мкм2. Гістограми розподілу за Fh і Fn були наближені до К. Активність СДГ в Гц досягла найвищого рівня з нерівномірною локалізацією гранул упродовж печінкових балок. Активність КФ зменшилася.

На 60-у добу (30 діб після введення глутаргіну) ми спостерігали наближену до К будову печінкових часточок. Проте в цитоплазмі багатьох Гц визначалася дрібна зернистість і прозорі вакуолі. Поміж Гц містилися поодинокі лімфоцити і макрофаги. Активність СДГ менша, а КФ більша від 30-ї доби. Гістограми за Sh, Sn і Sn/Sh унімодального типу. Зміни за Fh засвідчили помірну деформацію Гц, а форма ядер була округлою.

Тобто, у результаті корекції глутаргіном, введеним внутрішньошлунково, ми встановили його позитивний вплив, при якому морфологічна картина наближалася до К на 30-у добу (тобто під час введення глутаргіну). До 60-ї доби в морфологічній, гістохімічній і морфометричній картині проявилися ознаки зменшення ефективності цього засобу.

*Корекція токсичного впливу П 2,4-Д на печінку внутрішньоочеревинним введенням глутаргіну****.*** На 3-ю добу морфологічні зміни в печінці поліморфні: дискомплексація пластинок І і ІІ зон, різний функціональний стан Гц. У І зоні траплялися Гц зі значним набряком цитоплазми і двоядерні. СГ звужені в І та ІІ зонах, у ІІІ зоні наближені до К. Навколо центральних вен, між Гц та в портальних трактах лімфо-плазмоцитарна інфільтрація.

Зменшилася кількість Гц із Sh=140,00-200,0 мкм2 і Sh>360,0 мкм2, а кількість ядер із Sn до 40,00 мкм2 зменшилася і із Sn>40,01 мкм2 зросла. Гістограми за Sh і Sn мали бімодальний тип. Sn/Sh виявило зсув вліво. Форма ядра стала більш округлою.

Активність СДГ зросла в найбільшій мірі в І зоні і помірно – у ІІ і ІІІ зонах. Активність КФ зменшилась у І зоні від (2,82±0,23) балів до (2,62±0,18) балів, p<0,05. Електронномікроскопічно в Гц набряк цитоплазми, зменшення кількості вакуолей, сплощення цистерн ЕС і розташування ГЕС біля М.

На 7-у добу печінкові балки майже в половини часточок у центролобулярних зонах мали радіальний напрям. Цитоплазма Гц І і ІІ зон містила дрібні вакуолі. Між Гц виявлялися лімфоцити, макрофаги. Просвіти СГ І і ІІ зон нерівномірно звужені. Сполучна тканина портальних трактів набрякла зі слабою лімфо-макрофагальною інфільтрацією. Морфометричні показники Гц за Sh і Sn продовжували нормалізуватися. Активність СДГ помітно зростала в Гц усіх зон - у цитоплазмі з’явилися крупні гранули, а КФ - зменшувалася.

Більшість М Гц мали нормальну будову, цистерни ГЕС щільно упаковані, кількість ліпідних вакуолей, лізосом і пероксисом мінімальна. На жовчевому полюсі Гц помітні мікроворсинки, а між Гц – чіткі десмосоми. Просвіти жовчних капілярів дещо розширені. У стінці СГ вирізнялися макрофаги з помітними відростками і лізосомами в цитоплазмі.

Через 14 діб ступінь дистрофічних змін у Гц зменшувався. У Гц ІІІ зони містилася дрібна зернистість, ІІ зони – дрібні вакуолі, І зони – крупні вакуолі. В усіх зонах часточок траплялися двоядерні Гц, лімфоцити. Визначалися гіперхромні ядра, що дослідники пояснюють підвищенням регенераторної активності Гц (Гудима А.А., 2007). Просвіти СГ нерівномірно розширені. Портальні тракти звичайної будови. Збільшилася кількість Гц із Sh=140,00-280,00 мкм2. Про розвиток компенсаторних процесів у Гц свідчить посилення КЗ між Sn і Sh (r=0,543, p<0,05). Sn/Sh виявило зсув вправо. КЗ між Sn/Sh і Sh зросло (r=-0,447, p<0,05). За Fh домінуючою групою залишалися Гц з Fh=1,21-1,35. Ядра округлилися (Fn до 1,20).

Активність СДГ зросла в Гц усіх зон, продукт реакції на КФ дифузний.

У навколоядерній зоні Гц органели локалізувалися досить щільно. М мали різні розміри, тонкі кристи і матрикс помірної щільності. Кількість цистерн ГЕС навколо них зменшувалася. Ліпідні вакуолі траплялися рідко. Жовчевий полюс Гц містив прозорі вакуолі. Плазмолема, обернена до простору Діссе, мала численні мікроворсинки. Просвіти жовчних капілярів невеликі. Стінка СГ тонка.

21-а доба виявила прогресуючі позитивні зміни в будові Гц. Траплялися двоядерні Гц в усіх зонах. Збільшилася кількість великих за Sh і Sn Гц. КЗ між Sn і Sh пряма, середньої сили. Розподіл за Sn/Sh, Fh і Fn, активність СДГ і КФ, електронномікроскопічна картина Гц були подібні до 14-ї доби.

На 30-у добу помітне значне зменшення ступеня дистрофічних змін. Траплялися Гц з великими ядрами, двоядерні і з фігурами мітозу, а між Гц поодинокі лімфоцити і макрофаги. Гц в стані некрозу і некробіозу відсутні. Складові перипортальних трактів у межах норми. Форма і розміри Гц наближалися до К. Збільшилася кількість Гц великих за Sh. За Sn зменшилося число ядер до 20,00 мкм2 і було нестабільним у групах від 20,01 мкм2. КЗ між Sn і Sh послабшала, а між Fh і Sh змінилася з оберненої на пряму. Вірогідно зросла активність СДГ і зменшилася - КФ. Електронна мікроскопія виявила в Гц М з чіткою зовнішньою мембраною і численними кристами. Цистерни ГЕС гіпертрофовані, на їх зовнішній поверхні помітні густо розміщені прикріплені рибосоми. Мішечки ЕС дрібні. В ядрах Гц спостерігали гіперплазовані ядерця. У Гц визначалися численні вільні рибосоми і полісоми, гранули глікогену.

На 60-у добу більшість часточок мала нормальну будову. Гц виявляли цитоплазму з дрібною базофільною зернистістю. Округлі ядра Гц інколи містили два ядерця. Поодинокі лімфоцити були рівномірно розподілені по часточці. Але, незважаючи на поліпшення стану печінкової паренхіми, її кількісні параметри не повністю відповідали К. Так, у розподілі Гц за Sh визначалася менша кількість Гц із Sh=140,00-180,00 мкм2, пік гістограми змістився вліво. Більша, порівняно з K, кількість ядер мала Sn>35,00 мкм2, гістограма за Sn стала бімодальною (у К – унімодальна). КЗ між Sn/Sh і Sh обернена. Розподіл Гц за Fn наблизився до К.

Гістотопографія активності СДГ і КФ така, як і на 30-у добу. На електронних мікрофотографіях Гц вирізнялися дещо збільшені в розмірах ядра. Окремі М збільшені в розмірах, їх кристи різної довжини, матрикс звичайної щільності. Цистерни ГЕС плоскі, в їх оточенні багато вільних рибосом і полісом.

Біохімічне дослідження показало, що на 7-у добу активність АСТ зменшилася до (1,07±0,06) мкмоль/год.л (р<0,05), АЛТ – до (0,64±0,04) мкмоль/год.л (p<0,05), а ЛФ - у 2,86 рази. Через 28 діб внутрішньоклітинні процеси в Гц стабілізувались і активність АСТ, АЛТ і ЛФ нормалізувалися. Вміст дієнових кон’югатів і малонового альдегіду від 7-ї до 28-ї доби зменшився і досяг норми. Активність церулоплазміну, який синтезується лише на мембранно­зв’язаних полісомах Гц і слугує індикатором їх функціонального стану, досягла (49,47±0,72) у.о., К= (52,16±0,76) у.о. Водночас підвищилася активність каталази.

Таким чином, результати проведених дослідів із внутрішньоочеревинною корекцією глутаргіном показали, що цей спосіб введення мав позитивні наслідки, які проявлялися швидкою нормалізацією стану паренхіми печінки, розвитком у Гц компенсаторних реакцій, утримання морфометричних показ­ників на рівні К до 21-30-ї доби після останнього введення глутаргіну, із деяким наступним ослабленням компенсаторних і регенераторних процесів до 60-ї доби.

## *ВИСНОВКИ*

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукового завдання – встановлення закономірностей морфогенезу печінки під дією П 2,4-Д та змін печінки при їх корекції глутаргіном за різних умов його введення на основі мікроскопічного, морфометричного, гістохімічного, електронномікроскопічного та біохімічного дослідження.

1. Під впливом П 2,4-Д у печінці розвивався токсичний гепатит: виявлено порушення цитоархітектоніки печінкових пластинок і їх лімфо-плазмоцитарну інфільтрацію, набряк, деформацію гепатоцитів та їх ядер, як під час введення П 2,4-Д (14 діб), так й у відновному періоді. Від 21-ї до 30-ї доби набряк зменшувався і поступово проявлялись ознаки адаптаційних і компенсаторних процесів, підтверджені морфометрично. На 60-у добу досліду в печінці визначалися залишкові ознаки - дрібновакуольна дистрофія, слаба інфільтрація лімфоцитами і плазмоцитами, недосягнення гепатоцитами нормальних клітинних параметрів. До 14-ї доби досліду в гепатоцитах наростала дисфункція окисно-відновних (зменшення активності СДГ) і катаболічних (збільшення активності КФ) процесів, із 21-ї доби активність ферментів мала тенденцію до стабілізації, але на кінець досліду не досягла показників норми.

2. Електронномікроскопічно під впливом П 2,4-Д у цитоплазмі встановлено токсичне набухання ядер, виразні порушення структури плазмолеми гепатоцитів та ендотеліоцитів, пошкодження органел мембранного типу, зменшення кількості вільних і прикріплених до сплощених цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки рибосом, і як наслідок, дистрофічно-деструктивні процеси в гепатоцитах. Зростала кількість лізосом і пероксисом, ліпідних вакуолей, автофагосом, у мітохондріях виявлявся різний ступінь пошкодження мембран. У відновний період (21-30 доби) в ядрах і ядерцях гепатоцитів визначались ознаки регенераторних процесів. У стінці синусоїдних гемокапілярів виявлено потоншення ендотеліального вистелення, обмежена кількість органел у них, в окремих ділянках руйнуван­ня стінки з виходом еритроцитів у простір Діссе.

3. Морфогенез токсичного гепатиту за дії П 2,4-Д супроводжувався дисбалансом процесів ПОЛ і АОС - збільшенням у крові вмісту первинних (дієнових кон’югатів) і вторинних (малонового альдегіду) продуктів вільнорадикального окислення та зменшенням активності церулоплазміну і каталази. Розвивалися синдроми цитолізу (зростання активності АЛТ і АСТ) і холестазу (підвищення активності ЛФ).

4. Результати світлооптичного, морфометричного та електронномікроскопічного дослідження за інтоксикації П 2,4-Д підтвердили, що саме мембранопошкоджувальний механізм дії є одним із визначальних у виникненні реактивних, альтеративних і компенсаторно-пристосувальних процесів при інтоксикації П 2,4-Д на тлі оксидативного стресу (14 діб), але незважаючи на перевагу дистрофічно-деструктивних процесів, після припинення введення П 2,4-Д (21-30 доби) у гепатоцитах спостерігали відновлювальні процеси: гіпертрофію ядер, появу двоядерних клітин. Від 30-ї доби визначалися прояви зриву адаптаційних процесів.

5. При введенні глутаргіну одночасно з П 2,4-Д адаптаційні та компенсаторно-пристосувальні зміни в гепатоцитах були помірними протягом 30 діб: набряк зменшився, форма гепатоцитів і їх ядер зберігала стабільність розподілу на гістограмах і підтверджувалася змінами кореляційної залежності між морфометричними показниками на протилежну, виявлялися гіпертрофічні зміни органел, збільшилися розміри ядер, які дестабілізувалися після припинення введення глутаргіну. Функціональна активність гепатоцитів характеризувалася підвищенням активності СДГ і помірним зменшенням активності КФ із 7-ї до 30-ї доби досліду.

6. При застосуванні глутаргіну внутрішньошлунково в корекції інтоксикації П 2,4-Д, встановлено, що його позитивний вплив на гепатоцити підтримувався тільки під час введення глутаргіну (30 діб) – морфо-функціональний стан печінки поліпшився: кількість гепатоцитів із великою площею профілю гепатоцита на 14-у добу була максимальною, зменшився набряк, визначалися значні гіпертрофічні прояви і поступове повільне їх зменшення в наступні терміни. У цитоплазмі гепатоцитів відповідно зростала активність СДГ і знижувалась активність КФ (не досягаючи контролю на 60-у добу).

7. При внутрішньоочеревинній корекції глутаргіном після 14-денного введення П 2,4-Д виявлено поліпшення всіх показників діяльності печінки. На 3-14-і доби знижувався ступінь дезорганізації пластинок печінкових часточок, у гепатоцитах зменшувалися прояви альтерації, у них ідентифікувались ознаки внутрішньоклітинної гіпертрофії (зростала кількість міто­хондрій, цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки, рибосом і полісом, насиченість цитоплазми глікогеном, зменшувалося число ліпідних вакуолей, лізосом і фагосом, зникала лімфо-плазмоцитарна інфільтрація). В ядрах активувалися процеси білкового синтезу (м’які інвагінації, збільшення розмірів ядер, їх плоїдності та гіпертрофія і гіперплазія ядерець). За поліп­шення функціонального стану гепатоцитів свідчили підвищення активності СДГ, зменшення активності КФ, нормалізація показників ПОЛ і АОС, ослаблення активності трансаміназ і лужної фосфатази. Компенсаторні реакції в гепатоцитах і їх морфометричні показники утримувалися на контрольному рівні до 30-ї доби (3 тижні після останнього введення глутаргіну), із наступним ослабленням компенсаторних і регенераторних реакцій.

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Геращенко С.Б. Морфо-функціональний стан гепатоцитів під впливом пестициду 2,4-Д / С.Б.Геращенко, О.І.Дєльцова, Г.Б.Кулинич // Вісник проблем біології і медицини. – 2006. – Вип.2. – С.196-198. *Здобувач провела експеримент, виконала дослідження печінки. Співавтори проф. С.Б.Геращенко, проф. О.І.Дєльцова надавали консультативну допомогу.*

2. Дєльцова О.І. Вплив пестицида 2,4Д на будову печінки і тонкої кишки / О.І.Дєльцова, С.Б.Геращенко, М.І.Грищук, Г.Б.Кулинич // Таврический медико-биологический вестник. – 2006. – Т.9, №3. – С.50-53. *Здобувач провела експеримент, виконала дослідження печінки. Співавтори проф. О.І.Дєльцова, проф. С.Б.Геращенко - консультативна допомога. К.б.н. М.І.Грищук виконала дослідження тонкої кишки.*

3. Геращенко С.Б. Гепатотоксичні прояви пестициду 2,4-Д та їх корекція глутаргіном / С.Б.Геращенко, Г.Б.Кулинич // Вісник морфології. – 2007. - №13(2). – С.272-275. *Здобувач провела експеримент, виконала дослідження печінки. Співавтор проф. С.Б.Геращенко - консультативна допомога.*

4. Геращенко С.Б. Зміни ультраструктури гепатоцитів під впливом пестициду 2,4-Д та при їх корекції глутаргіном / C.Б.Геращенко, Г.Б.Кулинич, О.І.Дєльцова // Таврический медико-биологический вестник. – 2008. – Т.11, №3. – С.31-33. *Здобувач провела експеримент, виконала дослідження печінки. Співавтори проф. С.Б.Геращенко, проф. О.І.Дєльцова - консультативна допомога.*

5. Кулинич Г.Б. Перебудова структури печінки при одночасному введенні пестициду 2,4-Д і глутаргіну // Галицький лікарський вісник. – 2008. - №3. – С. 52-54.

6. Кулинич Г.Б. Гісто- і біохімічні показники функціонального стану печінки під впливом пестициду 2,4-Д та при внутрішньоочеревинній корекції глутаргіном / Г.Б.Кулинич // Світ медицини та біології.–2008. - №4. – С. 27-32.

7. Кулинич Г.Б. Вікові особливості гістохімічної активності гепатоцитів у щурів / Г.Б.Кулинич // Тези доп. Наук. конф. молодих вчених з міжнародною участю “Актуальні проблеми геронтології та геріатрії”. – Київ, 2006. – С.86.

8. Геращенко С.Б. Морфометричні зміни гепатоцитів під впливом пестициду 2,4-Д / С.Б.Геращенко, О.І.Дєльцова, В.М.Волошинович, Г.Б.Кулинич // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2006. – Т.5, №2. – С.24-25. *Здобувач провела експеримент, виконала дослідження печінки. Проф. С.Б.Геращенко, проф. О.І.Дєльцова - консультативна допомога. Доц. В.М.Волошинович оформляла матеріал до друку.*

9. Геращенко С.Б. Структура гепатоцитів під впливом пестициду 2,4-Д та після корекції глутаргіном / С.Б.Геращенко, О.І.Дєльцова, Г.Б.Кулинич // Досвід і проблеми застосування сучасних морфологічних методів досліджень органів і тканин у нормі та при діагностиці патологічних процесів: зб. мат-лів наук.-практ. конф., 24-25 травня 2007 р./ М-во охорони здоров’я, Тернопільськ. держ.мед.ун-т ім.І.Я.Горбачевського. – Тернопіль, Укрмед­книга, 2007. – С.27-29. *Здобувач провела експеримент, виконала морфологічне і морфометричне дослідження печінки. Проф. С.Б.Геращенко, проф. О.І.Дєльцова - консультативна допомога.*

10. Геращенко С.Б. Електронномікроскопічні зміни гепатоцитів під дією пестициду 2,4-Д / С.Б.Геращенко, Г.Б.Кулинич // Прикладні аспекти морфології експериментальних і клінічних досліджень: зб. мат-лів наук.-практ. конф., 29-30 травня 2008 р./ М-во охорони здоров’я, Тернопільськ. держ.мед.ун-т ім.І.Я.Горбачевського. – Тернопіль, Укрмедкнига, 2008. – С.27-29. *Здобувач провела експеримент, виконала дослідження печінки. Проф. С.Б.Геращенко - консультативна допомога.*

### АНОТАЦІЯ

### Кулинич Г.Б. Морфо-функціональні зміни печінки під впливом пестициду 2,4-Д амінної солі (дихлорфеноксиоцтової кислоти) та їх корекція глутаргіном. **– Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.09 – гістологія, цитологія, ембріологія. Івано-Франківський національний медичний університет, Івано-Франківськ, 2009.

У дисертації на 121 щурах вивчено вплив пестициду 2,4-Д на печінку і можливості його корекції глутаргіном. Методи дослідження: комп’ютерний морфометричний, гістохімічний, ультрамікроскопічний, біохімічний (основні параметри крові, стан процесів перекисного окислення ліпідів і антиоксидантної системи).

Встановлено, що в печінці під дією пестициду 2,4-Д на тлі оксидативного стресу виникають реактивні, альтеративні і компенсаторно-пристосувальні процеси (14 діб). Після припинення введення пестициду 2,4-Д (21-30 діб) у гепатоцитах спостерігалися відновлювальні процеси: гіпертрофія ядер, поява двоядерних клітин. Від 30-ї доби визначалися прояви зриву адаптаційних процесів.

Одночасне введення глутаргіну і пестициду 2,4-Д внутрішньошлунково мало позитивний вплив на морфо-функціональний стан печінки, але не досягало завершеності. Визначено позитивні ефекти глутаргіну та недоліки за його внутрішньошлункового і внутрішньоочеревинного введення.

**Ключові слова:**морфологія, печінка, пестицид 2,4-Д, глутаргін.

**АННОТАЦИЯ**

### Кулинич Г.Б. Морфо-функциональные изменения печени под влиянием пестицида 2,4-Д аминной соли (дихлорфеноксиуксусной кислоты) и их коррекция глутаргином. **– Рукопись.**

Дисертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.09 – гистология, цитология, эмбриология. Ивано-Франковский национальный медицинский университет, Ивано-Франковск, 2009.

В диссертации на 121 крысах установлены закономерности морфогенеза влияния пестицида 2,4-Д на печень и ее изменения при их коррекции глутаргином с помощью разных способов его введения на основании микроскопического, морфометрического, гистохимического, электронно-микроскопического и биохимического исследования.

Под влиянием пестицида 2,4-Д в печени розвивался токсический гепатит: наблюдались нарушення цитоархитектоники печеночных долек и лимфо-плазмоцитарная инфильтрация, отек, деформация гепатоцитов (Гц) и их ядер, как во время введения пестицида 2,4-Д (14 сут), так и в восстановительном периоде. На 21-30-е сут отек уменьшался и проявлялись признаки адаптационных и компенсаторных процессов, подтвердженные морфометрически. На 60-е сут в печени наблюдались мелковакуольная дистрофия Гц, слабая инфильтрация лимфоцитами и плазмоцитами, недостижение Гц нормальных клеточных параметров. До 14-х сут опыта в Гц нарастала дисфункция окислительно-восстановительных (уменьшение активности сукцинатдегидрогеназы, СДГ) и катаболических (увеличение активности кислой фосфатазы, КФ) процессов. С 21-х сут активность ферментов имела тенденцию к стабилизации, но на конец опыта не достигла нормы.

Электронномикроскопически под влиянием пестицида 2,4-Д в цитоплазме Гц выявили дистрофические и деструктивные процессы: токсическое набухание ядер, нарушение структуры плазмолеммы Гц и эндотелиоцитов, повреждение органелл мембранного типа, уменьшение количества свободных рибосом и дегрануляцию зернистой эндоплазматической сети, возрастало количество лизосом и пероксисом, липидных вакуолей, автофагосом, в митохондриях выявлялась разная степень нарушения их структуры. В стенке синусоидных гемокапилляров определялось истончение эндотелиоцитов, расхождение межэндотелиальных контактов, на отдельных участках разрушение стенки с выходом эритроцитов в пространство Диссе. На 21-30-е сут в ядрах и ядрышках Гц выявлялись признаки регенераторных процессов.

Морфогенез токсического гепатита под влиянием пестицида 2,4-Д сопровождался дисбалансом процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системы (АОС): увеличение в крови содержания диеновых коньюгатов и малонового альдегида, уменьшение активности церулоплазмина и каталазы. Развивались синдромы цитолиза (возрастание активности АЛТ и АСТ) и холестаза (повышение активности щелочной фосфатазы).

Результаты исследования при интоксикации пестицидом 2,4-Д подтвердили мембранно-повреждающий механизм воздействия на Гц, как определяющий в возникновении реактивных, альтеративных и компенсаторно-приспособительных процессов на фоне оксидативного стресса (14 сут). После прекращения введения пестицида 2,4-Д (21-30-е сут) в Гц наблюдали признаки восстановительных процессов: гипертрофию ядер, появление двухядерных клеток. С 30-х сут определялись признаки срыва адаптационных процессов.

При введении глутаргина одновременно с пестицидом 2,4-Д адаптационные и компенсаторно-приспособительные изменения в Гц были умеренными на протяжении 30 сут (отек уменьшился, форма Гц и их ядер сохраняла стабильность распределения на гистограммах и подтверждалась изменением корреляционной зависимости между морфометрическими показателями на противоположную, выявлялись гипертрофия органелл, увеличение розмеров ядер), которые дестабилизировались после прекращения введения глутаргина. В Гц выявлено повышение активности СДГ и умеренное уменьшение активности КФ на 7-30-е сут.

Применение глутаргина внутрижелудочно на фоне пестицидной 2,4-Д –интоксикации показало его положительное влияние на Гц, которое поддерживалось только во время введения глутаргина (30 сут). Улучшилось морфо-функциональное состояние печени: уменьшился отек, количество Гц с большими значениями площади Гц и гипертрофическими проявлениями на 14-е сут было максимальным, в последующие сроки наблюдалось их постепенное уменьшение. В цитоплазме Гц возрастала активность СДГ и снижалась активность КФ, не достигая контроля на 60-е сут.

При внутрибрюшинной коррекции глутаргином (на фоне 14-дневного введения пестицида 2,4-Д), выявлено улучшение всех показателей деятельности печени. В морфологической картине на 3–14-е сут в Гц уменьшались проявления дистрофических и деструктивных нарушений, идентифи­цировались признаки внутриклеточной гипертрофии Гц (возрастало количество митохондрий, цистерн гранулярной эндоплазматической сети, рибосом и полисом, насыщенность цитоплазмы гликогеном, уменьшалось число липидных вакуолей, лизосом и фагосом, исчезала лимфо-плазмоцитарная инфильтрация). В ядрах активировались процессы белкового синтеза (мягкие инвагинации, увеличение размеров ядер и их плоидности, гипертрофия и гиперплазия ядрышек). Об улучшении функционального состояния Гц свидетельствовало повышение активности СДГ, уменьшение активности КФ, нормализация показателей ПОЛ и АОС, ослабление активности трансаминаз и щелочной фосфатазы. Компенсаторные реакции в Гц и их морфометрические показатели поддерживались на уровне контроля до 30-х сут опыта (3 недели после последнего введения глутаргина), с последующим ослаблением компенсаторно-приспособительных и регенеративных реакций.

**Ключевые слова:** морфология, печень, пестицид 2,4-Д, глутаргин.

**ANNOTATION**

**Kulynych G.B.** **Morpho-functional changes of the liver under the influence of pesticide 2,4D of amino salt (dichlorophenoxyacetic acid) and their correction with glutargin.** – Manuscript.

Thesis for the scientific degree of a Candidate of Medical Sciences in speciality 14.03.09 – Histology, Cytology, Embriology. Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, 2009.

The dissertation presents the results of the study of influence of pesticide 2,4 D (P 2,4 D) on the liver of 121 rats and means of its correction with glutargin. Methods of investigation: computer morphometric, histochemical, ultramicroscopic, biochemical.

Reactive, alterative and compensatory adaptation processes were established to emerge in the liver under the influence of P 2,4 (14 days). After stopping of P 2,4 –D introduction (21-30 days) the following restoration processes were found in hepatocytes: nuclear hypertrophy, the appearance of two-nucleus cells. The manifestations of adaptation processes failure were defined since the 30-th day.

Simultaneous intragastric introduction of glutargin and P 2,4 D had a positive effect on the morpho-functional state of the liver, but it didn’t reach the completion. Positive effects of glutargin have been determined as well as defects of its intragastric and intra-abdominal inroduction.

**Key words:** morphology, liver, pesticide 2,4 D, glutargin.

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

АЛТ - аланінамінотрансфераза

АОС – антиоксидантна система

АСТ - аспартатамінотрансфераза

ГЕС – гранулярна ендоплазматична сітка

Гц – гепатоцит

ЕС – гладка ендоплазматична сітка

КГ – комплекс Гольджі

КЗ – кореляційна залежність

КФ – кисла фосфатаза

ЛФ – лужна фосфатаза

М – мітохондрія

ПОЛ – перекисне окислення ліпідів

П 2,4-Д – пестицид 2,4-Д

СГ – синусоїдний гемокапіляр

СДГ – сукцинатдегідрогеназа

І зона – перипортальна зона

ІІ зона – проміжна зона

ІІІ зона – центролобулярна зона

Fh – коефіцієнт форми клітини

Fn – коефіцієнт форми ядра

Sh – показник площі клітини

Sn – показник площі ядра

Sn/Sh – співвідношення між площею ядра і площею клітини

*Висловлюємо щиру вдячність д.мед.н., проф. Левицькому В.А. за можливість проведення електронномікроскопічних досліджень на базі лабораторії електронної мікроскопії кафедри анатомії людини ІФНМУ і д.мед.н., проф. Ерстенюк Г.М. за можливість проведення біохімічних досліджень у лабораторії кафедри біологічної і медичної хімії ІФНМУ.*

Підписано до друку 28.04.2009 р. Формат 60х84/16.

Папір офсетний. Умовн. друк. арк. 0,9. Тираж 100 прим. Зам. №10.

Тираж здійснено у видавництві Івано-Франківського

національного медичного університету.

Свідоцтво про внесення суб’єкта видавничої справи до Державного реєстру

видавців, виготівників і розповсюджувачів видавничої продукції.

ДК №2361 від 05.12.2005 р.

76018. м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2.

 Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>