

Міністерство охорони здоров'я України
Вінницький національний медичний університет
ім. М. І.Пирогова

ЄГОРОВА ТЕТЯНА МИКОЛАЇВНА

УДК 615.849.2:599.323.4:591.436

**МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗА УМОВ АУТОІМУННОГО
ПОШКОДЖЕННЯ ТА ПРИ РАДОНОТЕРАПІЇ**

14.03.01 – нормальна анатомія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Вінниця – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Вінницькому національному медичному університеті ім.М.І. Пирогова МОЗ України.

НАУКОВИЙ КЕРІВНИК: доктор медичних наук, професор
Пушкар Михайло Степанович, Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, професор кафедри гістології.

ОФІЦІЙНІ ОПОНЕНТИ:

- доктор біологічних наук, професор **Волков Костянтин Степанович**, ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», завідувач кафедри гістології та ембріології;

- доктор медичних наук, професор, **Холодкова Олена Леонідівна**, Одеський національний медичний університет, завідувач кафедри анатомії людини.

Захист відбудеться “30” червня 2016 р. о 10 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 05.600.02 при Вінницькому національному медичному університеті ім. М. І. Пирогова (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

Автореферат розісланий “27” травня 2016 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради

І.М. Кириченко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Печінка є основним органом, що бере участь в процесах детоксикації та біотрансформації лікарських засобів, пестицидів та ін. Доведений вплив низки чинників, а саме: алкоголю, певних токсинів, ендокринних розладів, який може спричинити аутоімунне пошкодження печінки (Широкова Е.Н., 2012; Юджин Р., 2011; Raul J. Andradel, Paul M. Tulkens, 2011). Ключова роль у розвитку аутоімунного пошкодження гепатоцитів належить дефекту імунорегуляції, що проявляється втратою толерантності до власних антигенів.

В європейських та північноамериканських країнах пацієнти з аутоімунним пошкодженням печінки складають майже 20 % усіх хворих на хронічні пошкодження печінки, які призводять до інвалідизації (Циммерман Я.С., 2010). Важкість захворювання обумовлена прогресуванням запального процесу, руйнуванням архітекtonіки органу, розвитком фіброзу.

Відомо, що аутоімунні пошкодження печінки важко піддаються терапії, найчастіше відбувається лише часткове відтворення тканини органу (Звягинцева Т.Д., 2011; Долмагамбетова Е.С., 2011).

Головним засобом етіопатогенетичної терапії аутоімунного пошкодження були й досі залишаються глюкокортикоїди у режимі монотерапії та у комбінації з імунодепресантом азатиоприном. При їх застосуванні підвищується виживання хворих внаслідок гальмування запалення (Григорьев П.Я., 2001). Проте вже через декілька років лікування виявляються важкі побічні ефекти фіброзу, можливий розвиток цирозу печінки, а відміна глюкокортикоїдів обумовлює рецидив хвороби. У теперішній час з метою корекції патологічних змін широко застосовують антиоксиданти (Паламарчук О.В., 2002) та різноманітні сорбенти.

В наукових джерелах описаний позитивний вплив радону на загальний та регіональний кровообіг, мікроциркуляцію; нормалізуючий вплив на обмін білків, нуклеїнових кислот, ліпідів, макро- і мікроелементів. Радонотерапія активує гіпоталамо-гіпофізарно-надниркову систему, а також гормональну функцію статевих залоз, що пожвавлює вплив гормонів на трофічні процеси у тканинах (Gregoruk I, 1980). Модулюючий вплив радонових процедур на функції життєво важливих, особливо загальнорегулюючих систем, обумовлює й диктує доречність використання його при захворюваннях органів дихання, опорно-рухового апарату, а також при патологічних процесах у печінці (Пушкар М.С. з співавт., 2008; Соловьева Л.А., 2008).

Зміни у печінці при дії на організм гепатотропних лікарських засобів, важких металів (Дельцова О.І. з співавт., 2002), малих і великих доз радіації (Цеглинська В.М., 2004) досліджувалися багатьма морфологами. Однак, до цього часу недостатньо вивчена структурна реорганізація печінки при розвитку альтерацій за умов аутоімунного ураження та застосування коригуючих чинників.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана відповідно плану наукових досліджень Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова і є складовою частиною науково-дослідних тем кафедри гістології «Морфологічна характеристика епітеліальних бар'єрів і процеси регенерації за умов тривалої дії хімічних і радіаційних факторів малої інтенсивності та пошуки корекції» (2006-2009 рр.), державний реєстраційний

номер 0104U004385 та «Морфофункціональні дослідження спонтанної і корегованої регенерації при експериментальних патологічних станах» (2009-2013 рр.), державний реєстраційний номер 0109U004935.

Автором самостійно виконаний фрагмент дослідження, присвячений вивченню особливостей структурної перебудови паренхіми та гемомікроциркуляторного русла печінки при експериментальному аутоімунному пошкодженні печінки та після застосування радонових ванн.

Мета дослідження - встановити структурні зміни печінки при модельованому аутоімунному пошкодженні печінки та при корекції радоновими ваннами в експерименті.

Задачі дослідження:

1. Встановити морфологічні та морфометричні зміни печінки лабораторних щурів з модельованим аутоімунним пошкодженням печінки.
2. Встановити якісні та кількісні характеристики гістотопографії лектинових рецепторів структур печінки щурів з аутоімунним пошкодженням.
3. Вивчити структурний стан печінки щурів з модельованим аутоімунним пошкодженням органа за умов застосування водних ванн.
4. Вивчити структурний стан печінки щурів з модельованим аутоімунним пошкодженням органа при корекції радоновими ваннами.
5. Встановити зміни гістотопографії лектинових рецепторів у печінці щурів при корекції аутоімунного пошкодження органа радоновими ваннами.

Об'єкт дослідження - морфологічні зміни печінки щурів на тлі експериментального аутоімунного пошкодження органа без корекції та за умов дії водних і радонових ванн.

Предмет дослідження - структурні, лектиногістохімічні, імуногістохімічні зміни паренхіми та стромы печінки щурів з модельованим аутоімунним пошкодженням органа без корекції та при застосуванні водних і радонових ванн.

Методи дослідження: експериментальні – модель аутоімунного пошкодження печінки, фізіотерапевтичні – радонові та водні ванни; гістологічні – для виявлення характеру структурних змін у печінці на клітинному рівні; імуногістохімічні – для деталізації патогенезу аутоімунного пошкодження печінки, лектиногістохімічні – для вивчення динаміки змін гістотопографії та кількості лектинових рецепторів у гепатоцитах та судинах печінки; електронно-мікроскопічний – для встановлення характеру й динаміки ультраструктурних змін у гепатоцитах та стінках синусоїдів; морфометричний – для виявлення динаміки змін стереометричних показників; статистичний – для виявлення достовірності та порівняння отриманих даних.

Наукова новизна дослідження. Новими є відомості про послідовність, якісну і кількісну характеристики морфологічних змін у структурі печінки щурів при експериментальному аутоімунному пошкодженні печінки. Вперше в експерименті реалізована корекція аутоімунного пошкодження печінки радоновими ваннами, отримані результати гормезисної дії радону, які призводять до зменшення вакуольної дистрофії, некрозів гепатоцитів, до зменшення лімфо-плазмоцитарної інфільтрації, відтворення ультраструктури клітин печінки.

Вперше використані діагностичні лектини та визначені рецептори до них у

структурах печінки щурів при аутоімунному пошкодженні печінки та при застосуванні водних та радонових ванн.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані результати дослідження уточнюють та поглиблюють наукові данні про морфологічні та морфометричні зміни структурних компонентів печінки при її аутоімунному пошкодженні та при застосуванні радонових ванн, і можуть бути використані для подальшого вивчення цієї проблеми.

Отримані данні впроваджені у навчальний процес та наукову роботу на кафедрі анатомії Кримського державного медичного університету імені С. І. Георгієвського, кафедрі гістології та ембріології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», кафедрі гістології, цитології та ембріології ДЗ «Луганський державний медичний університет», кафедрі гістології, цитології та ембріології Української медичної стоматологічної академії, кафедрі анатомії людини та гістології медичного факультету Ужгородського національного університету, кафедрі гістології Запорізького державного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Дисертація є науково-дослідною працею дисертанта. Розробка методичної концепції роботи, ідея й завдання представленого наукового дослідження, інтерпретація отриманих експериментальних даних та висновки проведені в співпраці з науковим керівником – проф. Пушкарем М.С.

Аналіз даних літератури, обґрунтування актуальності проблеми, патентно-інформаційний пошук, експериментальне дослідження, забір матеріалу на мікроскопічне, лектиногістохімічне та електронно-мікроскопічне дослідження, статистичне опрацювання одержаних результатів, підготовка до друку наукових публікацій, оформлення дисертаційної роботи виконано автором самостійно.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації викладені та обговорені на IV Міжнародній науковій конференції студентів та молодих вчених «Молодь та перспективи сучасної медичної науки» (Вінниця, 5–6 квітня 2007 року); VI Міжнародній науковій конференції студентів та молодих вчених «Сьогодення та майбутнє медицини» (Вінниця, 9–10 квітня 2009 року); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Медична наука – 2010» (Полтава, 16–17 грудня 2010 року); науково-практичній конференції «Актуальні проблеми морфології» присвячена 70-річчю заслуженого діяча науки і техніки, професора Я. І. Федонюка (Тернопіль, 16–17 квітня 2010 року); науковому конгресі «IV міжнародні Пироговські читання» присвяченому 200-річчю М. І. Пирогова, V з'їзд анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України (Вінниця, 2–5 червня 2010 року); 2-му науковому симпозиумі «Анатомо-хірургічні аспекти дитячої гастроентерології» (Чернівці, 21 травня 2010 року); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Медична наука – 2011» (м. Полтава, 2011); Першому Українсько-Йорданському медичному конгресі та днях йорданської культури у Вінниці (Вінниця, 12–17 вересня 2011 року); 3-му науковому симпозиумі Буковинського національного медичного університету «Анатомо-хірургічні аспекти дитячої гастроентерології» (Чернівці, 2012 року); всеукраїнській науково-практичній конференції «Морфологічні аспекти ангіології» (м. Тернопіль, 24–25 жовтня 2013 року).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 18 наукових праць, які повністю відображають зміст проведеного дослідження; з них 10 статей - у фахових наукових виданнях (у тому числі одна робота в журналі, що включені до наукометричної бази), також 8 робіт – у збірниках наукових праць і тезах конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 234 сторінках, з яких 178 сторінок залікового машинописного тексту і складається із переліку умовних позначень, символів, одиниць скорочень і термінів, вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, аналізу і узагальнення результатів дослідження, висновків, списку використаних джерел, з яких 212 викладені кирилицею, а 92 – латиницею. Робота ілюстрована 85 рисунками 36 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Експеримент проведено на 120 безпорідних статевозрілих щурах-самцях віком 3 місяці з початковою масою тіла 180-240 г. Тварини були розділені на 6 груп: 1 група (К) – контрольна група, що утримувалися у звичайних умовах віварію; 2 група (K_{H_2O}) – контрольна група щурів, яким протягом другого та п'ятого місяців проводили водні ванні процедури за певною схемою (14 ванн з проміжком через добу); 3 група (K_{Ra}) – контрольна група щурів, яким проводили протягом другого та п'ятого місяців ванні процедури з радоною водою за тією ж схемою (14 ванн з проміжком через добу); 4 група (АПП) – група щурів з модельованим аутоімунним пошкодженням печінки (АПП) за методом Вітебського (Witebsky E., 1961); 5 група ($АПП_{H_2O}$) – тварини з модельованим АПП, яким проводили протягом другого та п'ятого місяців водні ванні процедури за схемою (14 ванн з проміжком через добу); 6 група ($АПП_{Ra}$) – щури з модельованим АПП, яким проводили протягом другого та п'ятого місяців ванні процедури з радоною водою за тією ж схемою (14 ванн з проміжком через добу).

Стан сенсibiliзації тварин викликали підшкірним введенням комплексного антигену печінки, який готували за методом Вітебського. Отриманий антиген піддослідним тваринам вводили тричі підшкірно з інтервалами 48 годин по 0,1 мл, 0,2 мл, 0,3 мл на 200 г маси тіла. Остаточну дозу (четверту) у кількості 0,9 мл (на 200 г маси тіла) вводили вже через 21 добу (Суханов А. Ф., 1974).

Корекцію аутоімунного пошкодження печінки щурів здійснювали слабкорадонними ваннами з вмістом радону від 0,5 – 1,5 кБк/л (14 радонових ванн з інтервалом через день), а для контролю здійснювали вплив за тією ж схемою водними ваннами. Тривалість ванни становила 20 хвилин (температура – 37°C). Щурів виводили з експерименту для подальших морфологічних досліджень під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг) за загальноприйнятою методикою.

Утримання тварин та всі експериментальні дослідження проводили відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001). Матеріал науково-дослідної роботи розглянуто членами комісії з біоетики Вінницького

національного медичного університету імені М.І. Пирогова, протокол засідання № 8 від 11 вересня 2013р. Порушень морально-етичних норм у процесі виконання досліджень не виявлено.

Для виявлення структурних змін печінки на клітинному рівні були застосовані гістологічні методи. Матеріал в усіх випадках брали з лівої бічної частки органу. Гістологічне дослідження проводили на мікроскопі Laborlux S (Leitz) при збільшеннях: 10/0,25x10, 40/0,65x10 та 100/1,25x10. При проведенні морфометрії вивчали: відносний об'єм непошкоджених, пошкоджених гепатоцитів та синусоїдів у перилобулярних, проміжних та централобулярних зонах класичних печінкових часточок.

Для лектиногістохімічного дослідження використовували стандартний набір НПК «Лектинотест» (м. Львів) у розведенні 1:50 за рекомендованою методикою (Луцик А.Д., Детюк Е.С., Луцик М.Д., 1989). Візуалізацію місць зв'язування лектинів проводили у системі діамінбензидин-перекис водню. Контроль специфічності реакції здійснювали шляхом виключення зі схеми оброблення препаратів діамінбензидина.

Інтенсивність забарвлення зрізів різними лектинами оцінювали у балах порядкової шкали інтенсивності реакції, що дозволило у подальшому оцінювати статистичне значення різниць у вибірках з використанням непараметричних критеріїв, а також Т-критерія Уїлкоксона для зв'язаних вибірок. Вивчали: динаміку вмісту рецепторів лектинів (арахісу, рицини, зачатків пшениці, сої) у гепатоцитах, зірчастих макрофагоцитах, ендотеліальних клітинах синусоїдів, центральних вен, міжчасточкових артерій та вен, епітелії жовчних проток, клітинах та волокнах сполучнотканинної строми печінки.

Матеріал для електронно-мікроскопічного дослідження печінки щурів готували за загальноприйнятою методикою (Уіклі Б, 1975). Маленькі шматочки органу заливали у суміш епоксидних смол. Зрізи виготовляли на ультрамікротомі УМТП-7, контрастували 1 % розчином ураніацетату і цитратом свинцю за Рейнольдсом та вивчали на електронному мікроскопі ПЕМ 125К морфологію гепатоцитів, ендотеліоцитів синусоїдів, зірчастих макрофагоцитів, епітеліоцитів стінки міжчасточкових жовчних проток печінки щурів.

Для виявлення ступеня ураження печінки аутоїмунним процесом використовували оцінку наявності плазматичних клітин (Браше, 1942).

Імуногістохімічне дослідження проводили, використовуючи CD 79 α (JCB117) – пан-В-клітинний антиген, та CD 138 (5F7, MI15) – маркер плазматичних клітин. Вивчали: за допомогою маркера CD79 α локалізацію В-лімфоцитів, за допомогою маркера CD138 – плазматичних клітин в структурах печінки щурів різних експериментальних груп.

Статистичний аналіз отриманих даних проводили за допомогою стандартного пакету “Statistica6.1”(належить НДЦ ВНМУ ім. М. І. Пирогова, ліцензійний № ВХХR901E246022FA). Оцінювали правильність розподілу ознак за кожним з отриманих варіаційних рядів. Обчислювали: середнє арифметичне, середнє квадратичне відхилення, середню похибку. Достовірність різниць значень між мікрометричними величинами визначали за критерієм Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Комплексні морфологічні, лектиногістохімічні, електронно-мікроскопічні та морфометричні дослідження структури печінки інтактних щурів встановили, що вони відповідають загальним закономірностям будови органу у ссавців, проте мають певні видові особливості, які слід враховувати при проведенні експериментальних досліджень: печінка щурів містить шість часточок, в ній відсутній жовчний міхур, питома вага гладких міоцитів та еластичних елементів у стінці артерій неоднакова.

У групі контрольних щурів на тлі застосування водних ванн при гістологічному дослідженні на 60-у добу експерименту печінкові часточки мають класичну шестикутну форму, гепатоцити з чіткими контурами цитолемі, цитоплазма помірно еозинофільна, ядра нормо- і гіпохромні з чіткими контурами. У синусоїдах наявні ендотеліоцити і зірчасті макрофагоцити. Портальні тракти переважно представлені сполучною тканиною, яка помірно інфільтрована лейкоцитами. На 150-у добу експерименту гепатоцити в печінкових пластинках мають однорідне забарвлення та чіткі контури, їх цитоплазма еозинофільна, ядра нормохромні з одним або двома ядерцями. Зірчасті макрофагоцити подекуди набряклі. В зоні триад наявні помірні лейкоцитарні інфільтрати, які містять поодинокі плазматичні клітини. Електронно-мікроскопічно в цей термін досліду в цитоплазмі гепатоцитів спостерігається значна кількість мітохондрій з чіткими кристами, гладка та гранулярна ендоплазматична сітка, пластинчастий комплекс Гольджі, гранули глікогену. У цитоплазмі наявні помірна кількість вільних рибосом, вакуолей. Стінка синусоїдів утворена одним шаром ендотеліоцитів, у перисинусоїдних просторах спостерігаються мікрворсинки, нечітка базальна мембрана виявляється на окремих ділянках.

У щурів контрольної групи на тлі застосування радонових ванн (60-а доба експерименту) для структури паренхіми печінки характерна збереженість пластинок у печінкових часточках. Гепатоцити мають збільшені розміри, чіткі контури плазмолемі. У помірно розширених синусоїдах відмічаються збільшені за розмірами зірчасті макрофагоцити, моноцити, потовщені ендотеліоцити з інтенсивно базифільно забарвленим ядром. Перипортально відмічається розташування невеликих гепатоцитів. Портальні зони за структурною організацією подібні до таких у інтактних щурів. На 150-у добу експерименту спостерігається незмінена структурна організація гепатоцитів у печінкових пластинках. Відмічаються гіпертрофовані зірчасті макрофагоцити, в портальних зонах наявні незначні лімфоцитарно-моноцитарні інфільтрати.

У групі щурів з модельованим аутоімунним пошкодженням печінки через 30 і 60 днів від початку сенсibiliзації у печінці спостерігається виражена лімфоцитарна інфільтрація: перипортальні, східчасті та централобулярні некрози гепатоцитів, дисконкомплексія печінкових пластинок з деформацією синусоїдів (переважно в центральних і периферійних зонах класичних печінкових часточок). Виявлена велика кількість плазматичних клітин, їх чисельність збільшена у портальних зонах. На 120-у добу експерименту у печінці наявні некротично змінені ділянки, інтенсивна лейкоцитарна інфільтрація уздовж печінкових пластинок. Спостерігається скупчення фібробластів, подекуди формуються фібробластичні тяжі, спрямовані у напрямку часточки з перилобулярної зони. На 150-у добу

експерименту у портальних зонах наявні щільні клітинні лімфоцитарно-плазмоцитарні інфільтрати. Чисельність фібробластів збільшена в порівнянні з такими в попередніх строках дослідження. У стінках жовчних протоків помітна гіперплазія епітеліоцитів, строма навколо триад інфільтрована лейкоцитами. У паренхімі органу спостерігаються вогнища некрозу.

Електронно-мікроскопічні дослідження, проведені через 30 діб від початку аутоімунного пошкодження печінки встановили у цитоплазмі гепатоцитів скупчення жирових включень і велику кількість вакуолей, грудки глікогену значно зменшуються. У мітохондріях наявний осміофільний матрикс та пошкоджені кристи.

Через 60 діб субмікроскопічно у багатьох гепатоцитах визначаються пікноморфні ядра з нерівними контурами каріолеми, розширені перинуклеарні простори, ядерні пори погано виявляються. Через 120 діб серед гепатоцитів зі значною кількістю жирових включень у цитоплазмі виявлені клітини, цитоплазма яких мала підвищену електронну щільність, в ядрах відсутні ядерця. розташовані лімфоцити і нейтрофіли. Через 150 діб наявні гепатоцити з деформованими ядрами та інвагінаціями ядерної оболонки та нерівномірно збільшеним перинуклеарним простором. У цитоплазмі гепатоцитів виявляються скупчення жирових включень, електронно-прозорі ділянки, в яких відсутні органели.

У групі щурів з аутоімунним пошкодженням печінки на тлі застосування водних ванн на 60-у добу експерименту була виявлена виражена лімфоцитарна інфільтрація, жирова і вакуольна дистрофія та поширені некрози гепатоцитів з дисконкомплексацією печінкових пластинок в портальних зонах. В складі часточок у вогнищах некрозів збільшена кількість плазмоцитів, виявляються скупчення фібробластів у портальних зонах та навколо центральних вен. На тлі такої альтерації спостерігається гіпертрофія збережених гепатоцитів, збільшена чисельність двоядерних клітин, зокрема – в зоні крайових пластинок. Компенсаторною є гіперплазія фібробластів у портальних зонах та радіальна їх гіперплазія в печінкових часточках у вогнищах дистрофічно і некротично ушкоджених гепатоцитів. Через 120 діб ультраструктурні ознаки пошкодження гепатоцитів подібні до таких у щурів з аутоімунним пошкодженням без впливу водних ванн. У цитоплазмі гепатоцитів наявна значна кількість жирових включень і просвітлені вакуолі різної величини, відсутні гранули глікогену; мітохондрії переважно пошкоджені – відсутні кристи, матрикс просвітлений. Канальця ендоплазматичної сітки нерівномірно потовщені. У каріоплазмі ядер гепатоцитів переважає гетерохроматин, ядерця відсутні. У біліарних ділянках між гепатоцитами спостерігаються жовчні капіляри з розширеними просвітами.

У групі щурів з аутоімунним пошкодженням печінки на тлі застосування радонових ванн через 60 діб експерименту у цитоплазмі гепатоцитів зменшена кількість жирових включень, структура мітохондрій збережена. У стінці синусоїдів ультраструктурних зміни не визначаються.

На 120-у добу досліду печінкові часточки та пластинки мікроскопічно виглядають збереженими, мають радіальний напрямок. Центральні вени мають помірні просвіти, чітко контуровані. Субмікроскопічно структурна організація цитоплазми і ядер більшості гепатоцитів не змінені. Мітохондрії мають чіткі

кристи у помірно осміофільному матриксі, в цитоплазмі наявні зерна глікогену. Плазматична мембрана васкулярної поверхні гепатоцитів утворює чисельні мікроворсинки. Невеликої площі лейкоцитарні інфільтрати в порталних зонах містять небагато плазматичних клітин, переважають макрофаги і лімфоцити.

Після повторного курсу радонових ванн мікроскопічна організація печінки наближена до такої у інтактних щурів. У часточках печінкові пластинки упорядковано розташовані, в їх складі гепатоцити переважно однотипні з чіткими контурами цитолемі і каріолеми. Цитоплазма рівномірно еозинофільна. У перилобулярних зонах часточок відсутні дистрофічно змінені гепатоцити. В складі стінок синусоїдів наявні поодинокі гіпертрофовані ендотеліоцити. В порталних зонах відмічається помірна лімфоцитарно-макрофагальна інфільтрація.

Субмікроскопічно через 60 діб в гепатоцитах зменшена кількість жирових включень, вакуолоподібні структури мають невеликі розміри. Структура мітохондрій подібна до неушкоджених, хоча мають помірно осміофільний матрикс і частково пошкоджені кристи. Ядра – круглої форми з переважанням еухроматину. Конттури ядерних мембран чіткі, перинуклеарні простори помірно розширені та наявні ядерні пори.

Жовчні капіляри чітко обмежені десмосомами, мають неширокі просвіти, в яких наявні мікроворсинки. Просвіти синусоїдів помірно розширені. Ендотеліоцити чітко контуровані з еліпсоподібними ядрами, плазматична мембрана васкулярного полюсу гепатоцитів має численні мікроворсинки. Зірчасті макрофагоцити за структурою подібні до таких у інтактних щурів.

Гістологічні дослідження на 150-у добу експерименту встановили добре збережену структуру строми та паренхіми печінки. Субмікроскопічно у цитоплазмі гепатоцитів добре виражені органели: помірно розширені каналці ГЕС, на поверхні мембран міститься багато рибосом; наявні численні округлої та подовгастої форми мітохондрії з помірно осміофільним матриксом та чіткими кристами; відмічаються також невеликі цистерни агранулярної ЕПС та компоненти комплексу Гольджі. Ядра гепатоцитів містять добре виражені ядерця, чіткі ядерні пори. Між біліарними поверхнями гепатоцитів наявні обмежені десмосомальними контактами жовчні капіляри, вони мають неширокі просвіти та мікроворсинки. У печінкових пластинках спостерігаються невеликі за розмірами гепатоцити із просвітленою цитоплазмою, великим ядром і меншою щільністю органел. Більшість синусоїдів мають неширокі просвіти, добре виражені периваскулярні простори з чисельними мікроворсинками на васкулярній поверхні гепатоцитів. Ядерновмісна частина ендотеліоцитів включає невеликі за розмірами мітохондрії, окремі каналці ГЕС та рибосоми. Зірчасті макрофагоцити мають значний об'єм цитоплазми, неправильної форми ядра та нерівні контури плазмолемі. Характерним є присутність у цитоплазмі первинних і вторинних лізосом у вигляді фагосом, що вказує на їх функціональну активність.

Додаткові вагомі докази позитивного впливу радонових ванн на перебіг аутоімунного пошкодження печінки отримані при використанні лектиногістохімії, що має значний діагностичний потенціал у вивченні глікополімерів, якими є глікопротеїни та гліколіпіди у клітинах та в екстрацелюлярних структурах, зокрема у процесах морфогенезу, патогенезу захворювань і канцерогенезу (Волошин Н.А.,

2004; Волошин Н.А., 2005).

В печінці щурів контрольної групи глікополімери з кінцевими нередукуючими залишками N-ацетил-D-галактозаміну, що є рецепторами лектину сої, наявні в малих кількостях лише в зірчастих макрофагоцитах. Інші структури органу залишаються ареактивними.

Глікополімери з кінцевими нередукуючими залишками N-ацетилнейрамінової кислоти та N-ацетил-D-глюкозаміну, що є рецепторами лектину зачатків пшениці, наявні у різних структурах печінки щурів. Так гепатоцити та ендотеліоцити синусоїдів у часточках експресують нормовану кількість таких сполук. Багато їх у зірчастих макрофагоцитах, ендотеліоцитах центральних вен, артерій та вен тріад, в епітелії жовчних проток тріад.

Глікополімери з кінцевими нередукуючими залишками бета-D-галактози, що є рецепторами лектину арахісу, наявні в дуже малих кількостях лише в ендотелії центральних вен, ворітних вен тріад та епітелії жовчних проток тріад. Гепатоцити, зірчасті макрофагоцити, ендотелій синусоїдів та печінкових артерій тріад не мають таких біополімерів.

В структурах печінки щурів контрольної групи наявна порівняно велика кількість глікополімерів з кінцевими нередукуючими залишками бета-D-галактози, екранованою сіаловою кислотою, які є рецепторами лектину рицини. Найбільш багаті на ці сполуки ендотеліоцити центральних вен часточок та зірчасті макрофагоцити. Багато їх є у ендотелії інших судин та в епітелії жовчних проток тріад. Гепатоцити експресують невелику кількість місць зв'язування лектину рицини.

У групах щурів з аутоімунним пошкодженням печінки та на тлі застосування водних ванн виявляли накопичення рецепторів всіх лектинів – як у гепатопаренхиматозних, так і у гепатоваскулярних структурах. Така патологічна зміна рецепторної активності глікокон'югатів на цитолемі, у цитоплазмі гепатоцитів і зірчастих макрофагоцитів, в ендотеліоцитах, в епітелії жовчних проток і сполучнотканинних елементах портальних трактів поступово посилюється відповідно до наростання некротично-запального процесу. У рецепторах до лектину WGA залишок сіалової кислоти відщеплюється від глікополімерів, і тому у гепатоцитах та інших структурах печінки з'являються відсутні у нормі глікополімери з кінцевим залишком N-ацетил D-галактозаміну. Поява відсутніх у нормі глікополімерів на зірчастих макрофагоцитах печінки зменшує їх індукційну спроможність стосовно відновних процесів у гепатоцитах.

У щурів з аутоімунним пошкодженням печінки на тлі застосування радонових ванн після завершення першого курсу лікування радоновими ваннами, і ще значніше після другого курсу, спостерігається тенденція до нормалізації гістотопографії ата кількості рецепторів лектинів SBA і WGA у всіх структурах, за виключенням сполучнотканинної строми.

Така динаміка особливо показова при дослідженні рецепторів лектинів SBA. У контрольній групі щурів рецептори цих лектинів наявні лише на зірчастих макрофагоцитах, причому загальна кількість рецепторів тут відносно невелика. У той же час у щурів з аутоімунним пошкодженням печінки рецептори лектинів SBA виявляються у всіх паренхіматозних і васкулярних структурах печінки, причому не

у вигляді залишків, а у значній кількості. Таким чином, накопичення рецепторів до SBA на зірчастих макрофагоцитах маніфестує порушення їх функцій. А зірчасті макрофагоцити, беручи участь в обміні кортикостероїдів, природно регулюють ріст і регенерацію гепатоцитів. Отже на тлі аутоімунних пошкоджень у печінці цей регенераторний потенціал зменшений.

Аналогічні зміни гістотопографії і кількості рецепторів лектинів PNA виявляються у групах щурів з аутоімунним пошкодженням печінки та на тлі застосування водних ванн. У групі контрольних щурів ці біополімери відсутні у всіх клітинних елементах класичних печінкових часточок, за винятком ендотелію центральних вен, а у групах щурів з аутоімунним пошкодженням печінки та на тлі застосування водних ванн вони виявлені у великій кількості, переважно в зірчастих макрофагоцитах, ендотеліоцитах синусоїдів, у епітелії жовчних проток та у клітинах пухкої сполучної тканини порталних і перипортальних зон. Таким чином і цей зонд показує на втрату зірчастими макрофагоцитами регенераційної індукції на гепатоцити. У групі щурів з аутоімунним пошкодженням печінки на фоні застосування радонових ванн відбувається наближення до норми експресії рецепторів лектинів PNA.

Динаміка зміни рецепторів лектинів RCA відрізняється протилежною спрямованістю. У групі контрольних щурів вони у великій кількості виявлені на зірчастих макрофагоцитах, у ендотеліоцитах центральних вен класичних печінкових часточок і в інших структурах, за винятком гепатоцитів, де їх експресія відносно невелика. В той же час у групах щурів з аутоімунним пошкодженням печінки та на тлі застосування водних ванн кількість RCA-позитивних біополімерів знижена у всіх структурах, а у гепатоцитах та у ендотеліоцитах синусоїдів вони відсутні. У щурів з аутоімунним пошкодженням печінки на тлі застосування радонових ванн після першого курсу радонових ванн збільшена кількість рецепторів лектинів в усіх структурах за винятком клітин і волокон пухкої сполучнотканиної строми. Проте нормальних значень цей показник не сягає. Після другого курсу кількість рецепторів лектинів RCA ще більш збільшена у порівнянні з попереднім терміном дослідження, однак нижче за норму. У клітинах і волокнах пухкої сполучнотканиної строми зберігається експресія цих рецепторів.

Слід відзначити, що два курси радонових ванн, проведених в експерименті для контрольної групи щурів, до кінця п'ятого місяця впливають на зірчасті макрофагоцити, які є антиген-презентуючими клітинами, що здійснюють активний фагоцитоз та беруть участь в імунних реакціях. Помітна незаперечна тенденція наближення кількості досліджуваних у зірчастих макрофагоцитах рецепторів до контрольного рівня (рис.1, 2).

У більшості випадків відповідні стереометричні показники мають зональні особливості – найбільш виражені для відносного об'єму синусоїдів (у централобулярних зонах від 13,0 до 68,2 % більший, ніж у перилобулярних і проміжних зонах) і пошкоджених гепатоцитів (у перилобулярних і проміжних зонах від 10,7 до 40,1 % більший, ніж у централобулярних зонах) у різних групах щурів із аутоімунним пошкодженням печінки.

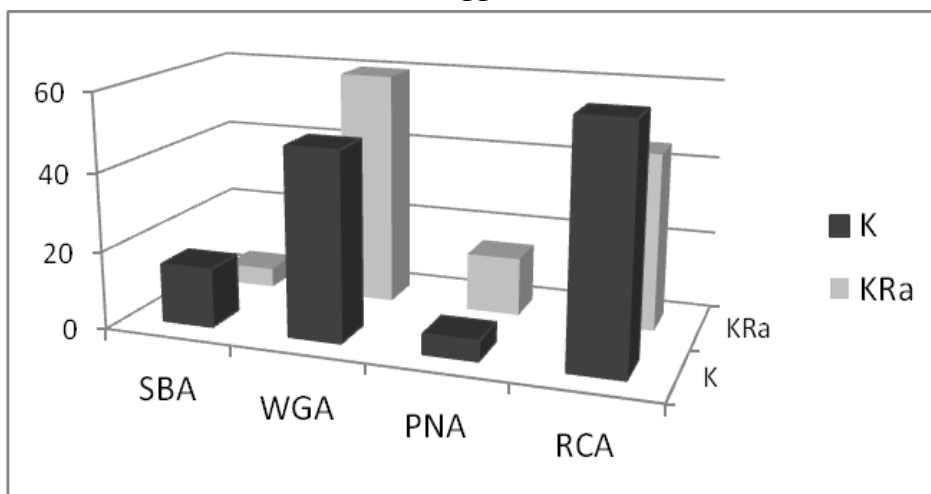


Рис. 1. Кількісний вміст рецепторів лектину сої (SBA), зародків пшениці (WGA), арахісу (PNA) та рицини (RCA) у зірчастих макрофагоцитах печінки щурів контрольної групи і після двох курсів радонових ванн.

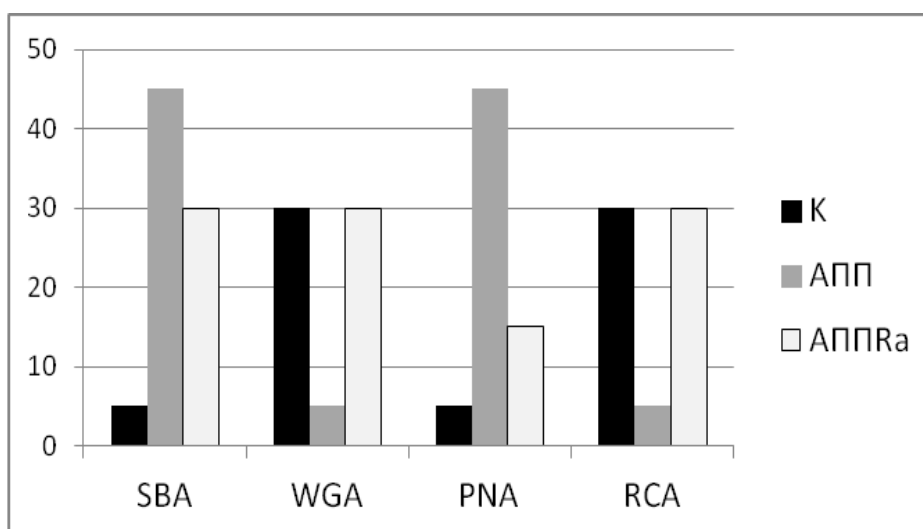


Рис. 2. Кількісний вміст рецепторів лектину сої (SBA), зародків пшениці (WGA), арахісу (PNA) та рицини (RCA) у зірчастих макрофагоцитах печінки щурів з аутоімунним пошкодженням печінки і після двох курсів радонових ванн.

У різних групах щурів із аутоімунним пошкодженням печінки в порівнянні з відповідними контрольними групами відносний об'єм *непошкоджених* гепатоцитів і синусоїдів у централобулярних, перилобулярних і проміжних зонах класичних печінкових часточок відповідно від 3,7–3,3–5,6 % до 58,9–76,8–85,4 % та від 8,7–13,5–7,9 % до 36,2–79,1–88,9 % менший, а відносний об'єм пошкоджених гепатоцитів від 22,8–18,0–18,0 % до 58,4,0–516,4–516,7 % більший.

Відносний об'єм пошкоджених гепатоцитів у різних зонах класичних печінкових часточок у щурів із пошкодженням печінки і на тлі застосування водних ванн у кожний наступний термін спостереження порівняно з попереднім має більші значення (від 6,7–7,0–11,5 % через 2 місяці до 39,7–41,1–40,4 % через 5 місяців), а у щурів із коригованим радоновими ваннами пошкодженням печінки – навпаки менші значення (від 19,1–15,4–5,3 % через 2 місяці до 58,2–70,0–77,0 % через 5 місяців), що вказує на виражений корегуючий ефект застосування при

аутоімунному пошкодженні печінки радонових ванн.

Аналіз результатів морфометричного (стереометричного) дослідження показав високу ефективність використання радонових ванн, безпосередньо альфа-терапії при корекції аутоімунного пошкодження печінки (табл. 1). Так, виявлена динаміка прогресивного збільшення відносного об'єму непошкоджених гепатоцитів та динаміка зменшення відносного об'єму пошкоджених гепатоцитів у трьох зонах класичних печінкових часточок групи щурів з модельованим аутоімунним пошкодженням печінки та радоною бальнеотерапією.

Таблиця 1

Показники динаміки відносного об'єму непошкоджених та пошкоджених гепатоцитів у перилобулярних, проміжних, та централобулярних зонах печінкових часточок щурів з АПП на тлі використання радонових ванн – у проекції на аналогічні показники, взяті за 100% у щурів без корекції АПП на 60, 120 та 150 добу експерименту ($p < 0,05$)

Строки дослідження	Зони часточки	Непошкоджені гепатоцити (%)	Пошкоджені гепатоцити (%)
60 доба	ЦЛ	104,5	81,4
	ПЛ	104,6	74,8
	ПРОМ	105,0	84,8
120 доба	ЦЛ	115,8	55,3
	ПЛ	119,4	59,6
	ПРОМ	118,9	63,9
150 доба	ЦЛ	138,5	35,5
	ПЛ	139,1	37,0
	ПРОМ	160,8	33,0

Примітка. ЦЛ – централобулярна зона, ПЛ – перилобулярна зона, ПРОМ – проміжна зона.

Електронно-мікроскопічно встановлений позитивний вплив застосування радонових ванн на внутрішньоклітинну регенерацію гепатоцитів, зменшення ступені дистрофічних та некробіотичних змін в органі за умов аутоімунного ураження.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі пропонується нове вирішення науково-практичної задачі, яка полягає у встановленні структурних змін печінки при модельованому аутоімунному пошкодженні органа та при корекції радоновими ваннами, що дозволило за допомогою морфологічних, ультрамікроскопічних, імунологічних, гістохімічних, статистичних методів довести доцільність використання радонових ванн для корекції дистрофічних та некробіотичних процесів у структурах печінки при аутоімунному пошкодженні органу.

1. У щурів з модельованим аутоімунним ураженням печінки вже на початку сенсibiliзації (30 та 60 діб) спостерігається виражена лімфо-плазмоцитарна інфільтрація, що прогресує, дисконкомплексация печінкових пластинок з деформацією

синусоїдів, на 120-у добу формуються фіброзні тяжі, вогнища некрозу. Ці процеси сягають максимуму на 150-у добу. Також, прогресивно знижується відносний об'єм непошкоджених гепатоцитів, особливо в центролобулярній та перилобулярній зонах, де на 120-у добу цей показник становив 73 та 70 % відповідно від показників контрольної групи, а на 150-у - 63 та 62 % відповідно ($p < 0,001$).

2. При аутоімунному пошкодженні печінки у всіх досліджених структурах печінки зникають N-ацетил-D-глюкозамінокон'югати, в клітинах з'являються відсутні в нормі глікополімери з кінцевим залишком N-ацетил-D-галактозаміну, що призводить до зменшення індукційної спроможності зірчастих макрофагів печінки на відновні процеси у гепатоцитах.

3. На всіх термінах дослідження у щурів з аутоімунним ураженням та після водних ванн спостерігаються макро-, мікро- та ультрамікроскопічні зміни, що характерні для стану тварин з аутоімунним ураженням в ті ж самі терміни: лімфоцитарна інфільтрація, жирова і вакуольна дистрофія, поширені некрози гепатоцитів з дисконкомплексацією балок, інфільтрація плазмоцитами портальних трактів і паренхіми часточок в місцях некрозів гепатоцитів, скупчення активних фібробластів в портальних зонах та навколо центральних вен, порушення структури мітохондрій, розширення жовчних капілярів, підвищений вміст пошкоджених гепатоцитів.

4. У щурів з аутоімунним пошкодженням печінки та після радонових ванн поступово знижується ступінь лімфо-плазмоцитарної інфільтрації та кількість пошкоджених гепатоцитів: на 120-у добу цей показник зменшується на 37-52 % залежно від зони часточки порівняно з тваринами без корекції, також на цей термін нормалізуються синтетичні процеси в гепатоцитах, відтворюється архітектоніка печінки, зростає вміст непошкоджених гепатоцитів – до 87,3 % в центролобулярній зоні, майже 88 % - у проміжній зоні, а на 150-у добу – навіть дещо перевищує показник контрольної групи ($p < 0,005$).

5. Застосування радонових ванн нормалізує гістотопографію та кількість рецепторів досліджених лектинів в усіх структурах печінки при аутоімунному пошкодженні печінки, за виключенням сполучнотканинної строми. Клітини строми незначно змінюють біосинтез тільки по відношенню до рецепторів лектину сої.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Кисельова Т. М. Аутоімунний гепатит і питання корекції / Т. М. Кисельова, М. С. Пушкар, О. І. Тереховська // *Biomedical and Biosocial Anthropology*. – 2008. – № 10. – С. 174–179. *(Здобувачем власноруч змодельовано аутоімунне пошкодження печінки у щурів, проведено 2 курси радонової бальнеотерапії. Зібрано гістологічний матеріал. Зроблено опис мікроскопічних препаратів)*

2. SBA-лектиногістохімічні маркери перетворень у структурах печінки щурів із модельованим аутоімунним гепатитом та при дії водними і радоновими ваннами / Т. М. Кисельова, О. Ю. Шаповалова, М. С. Пушкар, Л. О. Соловійова // *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія: медицина*. – 2009. – Вип. 37. – С. 34–40. *(Здобувачем вивчено спеціальну літературу, підготовлено до друку фактичні результати)*

3. Виявлення динаміки стану глікополімерів у печінкових структурах за допомогою WGA-лектину при аутоімунному гепатиті та радоновій терапевтичній корекції / Т. М. Кисельова, О. Ю. Шаповалова, М. С. Пушкар, Л. О. Соловійова, О. І. Тереховська // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, № 2. – С. 274–277. *(Здобувачем здійснено гістохімічні дослідження. Участь в аналізі відповідної літератури і підготовці матеріалів до друку)*

4. Кисельова Т. М. Електронно-мікроскопічна характеристика динаміки модельованого АІГ та його бальнеорадоновій корекції / Т. М. Кисельова // Вісник морфології. – 2010. – Т. 16, № 4. – С. 790–795.

5. Закономірності зв'язування лектину рицини (RCA) структурами печінки щурів з модельованим аутоімунним гепатитом та при дії водними та радоновими ваннами / Т. М. Кисельова, О. Ю. Шаповалова, Л. О. Соловійова, О. І. Тереховська, Р. В. Харковенко // Вісник проблем біології і медицини. – 2011. – Вип. 3, т. 2 (88). – С. 83–87. *(Здобувач здійснював аналіз спеціальної літератури, брав участь у підготовці матеріалів до друку)*

6. Кисельова Т. М. Експериментальний аутоімунний гепатит і результат радонової терапії. Структурні паралелі / Т. М. Кисельова // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2012. – № 19. – С. 141–146.

7. Кисельова Т. М. Морфологічні та лектиногістохімічні маніфестації альтернативної терапії експериментального аутоімунного гепатиту радоновими ваннами / Т. М. Кисельова, М. С. Пушкар, Л. О. Соловійова // Таврический медико-биологический вестник. – 2013. – Т. 16, № 1, ч. 2. – С. 71–75. *(Здобувач брав участь у мікроскопічному дослідженні та описі мікропрепаратів і підготовці матеріалу до друку)*

8. Радоновые ванны в лечении аутоиммунного гепатита: экспериментально – морфологическое исследование / Т. Н. Егорова, М. С. Пушкар, Л. А. Соловьева, В. В. Кравчук, А. П. Король, Е. И. Тереховская // Математическая морфология : электронный математический и медико-биологический журнал. – 2013. – Т. 12. – Вып. 3. – С. 15. *(Здобувач брав участь у гістологічних, морфометричних дослідженнях, проведенні статистичного аналізу, написанні статті)*

9. Кисельова Т. М. Структурна характеристика реакцій тимуса, легень і печінки на лікувальний курс радонових ванн / Т. М. Кисельова, В. О. Мазайкіна, О. Л. Черпаха // Молодь та перспективи сучасної медичної науки : мат. IV Міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених, (Вінниця, 5–6 квіт. 2007 р.). – Вінниця, 2007. – С. 40. *(Здобувач дослідила структури печінки щурів та підготувала матеріали до друку)*

10. Кисельова Т. М. Морфологічні елементи початкової гепатопатії в розвитку експериментального аутоімунного гепатиту / Т. М. Кисельова // Сьогодення та майбутнє медицини : мат. VI Міжнар. наук. конф. студентів та молодих вчених, 9–10 квіт. 2009 р. – Вінниця, 2009. – С. 72.

11. Структурна і лектиногістохімічна маніфестація позитивної фізіотерапевтичної корекції модельованого аутоімунного гепатиту / Т. М. Кисельова, Л. О. Соловійова, М. С. Пушкар, В. В. Кравчук, О. І. Тереховська // Актуальні проблеми морфології : мат. наук.-практ. конф., присвяч. 70-річчю засл. діяча науки і техніки, проф. Я. І. Федонюка, 16–17 квіт. 2010 р. – Тернопіль, 2010. –

С. 63–64. *(Здобувачем здійснено два курси радонових ванн для контрольних щурів та щурів з модельованим аутоімунним гепатитом. Вивчені та описані мікропрепарати печінки, підготовлені матеріали до друку)*

12. Закономірності зв'язування лектина арахіса (RNA) структурами печінки щурів з модельованим аутоімунним гепатитом та при дії водними та радоновими ваннами / Т. М. Кисельова, О. Ю. Шаповалова, М. С. Пушкар, Л. О. Соловійова, О. І. Тереховська, Р. В. Харковенко // Медична наука – 2010 : мат. Всеукр. наук.-практ. конф., 16–17 груд. 2010 р. – Полтава, 2010. – С. 110–115. *(Здобувач аналізував спеціальну літературу і брав участь у підготовці матеріалів до друку)*

13. Віддалений пато- і саноморфогенез у печінці при некорегованому аутоімунному гепатиті та фізіотерапевтичній корекції / Т. М. Кисельова, М. С. Пушкар, Л. О. Соловійова, О. І. Тереховська, В. В. Кравчук, В. О. Гненна // Анатомо-хірургічні аспекти дитячої гастроентерології : мат. 2-го наук. симп., 21 трав. 2010 р. – Чернівці, 2010. – С. 128–130. *(Здобувач самостійно провів забір матеріалу, вивчив спеціальну літературу, брав участь у обробці матеріалу, мікроскопічному дослідженні та описанні стану гістологічних структур печінки, в підготовці результатів до друку)*

14. Теоретический и прикладной аспект особенностей адаптогенных свойств радоновых ванн как малых радиационных воздействий / Л. О. Соловійова, М. С. Пушкар, Т. М. Кисельова, В. В. Кравчук, О. І. Тереховська // Перший Українсько-Йорданський медичний конгрес та дні йорданської культури у Вінниці, 12–17 верес. 2011 р. : мат. конгресу. – Вінниця, 2011. – С. 58–59. *(Здобувач брав участь у написанні наукового повідомлення до друку)*

15. Кисельова Т. М. Морфологічні маніфестації біопозитивної дії радонових ванн в терапії експериментального АІГ / Т. М. Кисельова, Л. О. Соловійова // Медична наука – 2011 : мат. Всеукр. наук.-практ. конф., 29–30 листоп. 2011 р. – Полтава, 2011. – С. 61–62. *(Здобувачем самостійно змодельовано аутоімунне пошкодження печінки у щурів та підготовлено фактичний гістологічний матеріал до друку)*

16. Імовірність альтернативної лікувальної корекції аутоімунного гепатиту радоновими ваннами / Т. М. Кисельова, О. І. Бабій, Л. О. Соловійова, М. С. Пушкар, О. І. Тереховська // Анатомо-хірургічні аспекти дитячої гастроентерології : мат. 3-го Наук. симп., 20 квіт. 2012 р. – Чернівці, 2012. – С. 118–120. *(Здобувач самостійно провів два курси радонових ванн для щурів з модельованим аутоімунним гепатитом і для контрольних щурів. Брав участь у гістологічному аналізі препаратів та у підготовці матеріалів до друку)*

17. Морфофункціональні вікна у вірогідне альтернативне лікування аутоімунного гепатиту (фізіотерапевтичний експеримент) / Т. М. Єгорова, Л. О. Соловійова, М. С. Пушкар, В. В. Кравчук // Морфологічні аспекти ангіології : мат. Всеукраїнської наук.-практ. конф., 24–25 жовт. 2013 р. – Тернопіль, 2013. – С. 51–55.

18. Yegorova T. M. Conceptual bases restorative morphogenesis of liver under the influence of radon balneotherapy during experimental autoimmune damage / Т. М. Yegorova // Світ медицини та біології. – 2016. – № 1 (55). – С. 132–136.

АНОТАЦІЯ

Єгорова Т. М. Морфологічні зміни у печінці щурів за умов аутоімунного пошкодження та при радонотерапії. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.01 – нормальна анатомія. – Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2016.

Виконано нове наукове дослідження, в якому отриманні дані щодо морфологічних змін у печінці при аутоімунному пошкодженні в експерименті: морфологічно, імунологічно, гістохімічно, електронно-мікроскопічно, статистично доведено зменшення дистрофічних та некробіотичних процесів у структурах печінки під впливом радонових ванн.

У щурів з модельованим аутоімунним пошкодженням виявлено інфільтрацію порталних зон, перилобулярні, східчасті та центролобулярні некрози. Наявна гіпертрофія та гіперплазія фібробластів у порталних зонах та у класичних печінкових часточках. Ультрамикроскопічні зміни гепатоцитів представлені явищами апоптозу, вакуольної дистрофії цитоплазми, деструкції мембран мітохондрій та руйнування їх крист.

У різних групах щурів із наявністю аутоімунного пошкодження печінки у порівнянні з відповідними контрольними групами відносний об'єм непошкоджених гепатоцитів та синусоїдів у центролобулярних, перилобулярних і проміжних зонах класичних печінкових часточок відповідно менший, а відносний об'єм пошкоджених гепатоцитів – більший. Відносний об'єм пошкоджених гепатоцитів у печінкових часточках у щурів із некоригованим аутоімунним пошкодженням печінки і на фоні застосування при аутоімунному пошкодженні печінки водних ванн у кожний наступний термін спостереження порівняно з попереднім має більші значення, а у щурів із аутоімунним пошкодженням печінки коригованим радоновими ваннами – менші значення, що вказує на явний корегуючий ефект застосування при аутоімунному пошкодженні печінки радонових ванн.

При лектиногістохімічному аналізі (використання лектинів SBA, WGA, PNA, RCA) виявили специфічні рецептори на структурах печінки. У щурів з модельованим аутоімунним пошкодженням печінки наявні не характерні для інтактних щурів «патологічні» рецептори на гепатоцитах та клітинах строми печінки.

Дія курсу ванн з звичайною водою на щурів з аутоімунним пошкодженням печінки не зменшували дистрофічних та некробіотичних процесів у печінці. Гістологічно, електронно-мікроскопічно, лектиногістохімічно структура печінки була подібна до такої у щурів з аутоімунним пошкодженням без корекції в аналогічні терміни дослідження. Дія радонової α -терапії зменшує дистрофічні, некробіотичні процеси та лейкоцитарну інфільтрацію. Доводить майже до контрольних показників лектинну рецепторну палітру у структурах печінки.

Ключові слова: аутоімунне пошкодження печінки, печінка, морфологічні зміни, радон, щури.

АННОТАЦИЯ

Егорова Т. Н. Морфологические изменения в печени крыс в условиях аутоиммунного повреждения и при радонотерапии.– На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.01 – нормальная анатомия. – Винницкий национальный медицинский университет им. Н. И. Пирогова МЗ Украины, Винница, 2016.

Выполнено новое научное исследование, в котором получены данные относительно морфологических изменений в печени при аутоиммунном повреждении в эксперименте: морфологически, иммунологически, гистохимически, микроскопически, статистически доказано уменьшение дистрофических и некробиотических процессов в структурах печени под влиянием радоновых ванн.

Эксперимент выполнен на 120 беспородных половозрелых крысах – самцах возрастом 3 месяца с первоначальной массой тела – 180 – 240 г. Животные были разделены на 6 групп: 1 группа (К) – контрольная группа, которые содержались в обычных условиях вивария; 2 группа (K_{H_2O}) – контрольная группа крыс, которым проводили по схеме водные ванны; 3 группа (K_{Ra}) – контрольная группа животных, которым проводили по этой же схеме радоновые ванны; 4 группа (АПП) – группа крыс с моделированным по определенной схеме аутоиммунным повреждением печени (АПП); 5 группа ($АПП_{H_2O}$) – животные с моделированным АПП, которые подвергались водным ваннам по определенной схеме; 6 группа ($АПП_{Ra}$) – крысы с моделированным АПП, которые подвергались ваннам с радоновой водой по этой же схеме. Животных контрольной и экспериментальных групп выводили из эксперимента, для последующих морфологических исследований по общепринятой методике на 30, 60, 120 и 150 сутки эксперимента. Статистическую обработку полученных данных проводили при помощи стандартного пакета “Statistica6.1”.

После введения комплексного антигена печени с неполным адьювантом (по Витебскому) у крыс развивались изменения, характерны для аутоиммунного поражения печени. Которые сопровождалась выраженной инфильтрацией плазмócитами портальных зон и септ, наличием мостовидных или ступенчатых некрозов гепатоцитов, расширением портальных зон с накоплением в них больших инфильтратов.

Лектиногистохимически получены данные о наличии при аутоиммунном повреждении печени в гепатоцитах и других исследованных структурах органа изменений экспрессии лектиновых рецепторов, характерных для интактных крыс (появление рецепторов лектинов SBA, PNA и редукция рецепторов лектинов WGA, RCA). Курсы радоновых ванн статистически достоверно влияют на локализацию и количество рецепторов лектинов SBA и PNA в структурах печени, понижая их экспрессию, характерную для интактных животных. Радоновые ванны влияют на экспрессию рецепторов лектинов WGA и RCA, препятствуя их редукции, что приближает их количество в структурах печени к норме.

Анализ результатов морфометрического исследования убедительно показал эффективность радоновых ванн при аутоиммунном повреждении печени. Через 2 и 4 месяца после завершения первого курса водных ванн ультраструктурные признаки повреждения гепатоцитов подобны таким у крыс с экспериментальным

аутоимунным повреждением печени без коррекции в те же сроки наблюдения. Электронно-микроскопическое исследование подтверждает тот факт, что радоновые ванны активируют внутриклеточную регенерацию, восстанавливают ультраструктуру гепатоцитов. У крыс после одного курса радоновых ванн в цитоплазме гепатоцитов количество жировых включений меньше чем в цитоплазме гепатоцитов у крыс с экспериментальным аутоимунным повреждением печени без коррекции в те же сроки наблюдения.

Таким образом, в результате проведенного исследования на разных уровнях структурной организации дана комплексная морфологическая оценка коррекции аутоиммунного повреждения печени у крыс радоновыми ваннами в течение 1 месяца - по 14 процедур с интервалом 1 сутки и повторно через 2 месяца по той же схеме. Под влиянием радоновых ванн мы наблюдали уменьшение лейкоцитарной инфильтрации, активацию внутриклеточной регенерации ультраструктур в гепатоцитах и других клетках. Локализация лектиногистохимических маркеров также приблизились к таковым у интактных крыс. Водные ванны не оказывали положительного действия. Изменения в печени в этом случае имели те же морфологические особенности, что и без коррекции, во все сроки исследований. Это подтверждается результатами морфологического и морфометрического исследования с использованием гистологических, электронно-микроскопических и лектиногистохимических методов.

Ключевые слова: аутоиммунное повреждение печени, гепатоцит, радон.

ANNOTATION

Yegorova T.M. Morphological changes in rats' liver in autoimmune damage condition and during radon therapy. – As Manuscript.

Thesis for holding of PhD degree of speciality 14.03.01. – Normal Anatomy. – National Pirogov Memorial Medical University, Vinnitsya, of the Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsya, 2016.

A new scientific investigation was conducted. Morphologic change data in the liver during autoimmune damage in the experiment were received.

Morphological, immunological, histochemical, electron-microscopical and statistical decrease of dystrophic and necrobiotic processes in the liver structure under the influence of radon bathes was proved.

In the rats with modeling autoimmune damage infiltration of portal areas, perilobular, stepwise and centrilobular necrosis was found.

Hypertrophy and hyperplasia of fibroblasts in the portal areas and classic lobules are evident. Ultramicroscopic hepatocytes changes are represented by phenomenon of apoptosis, cytoplasm vacuole dystrophy, mitochondria membrane destruction and their cristae demolition.

Relative volume of undamaged hepatocytes and sinusoids in centrilobular, perilobular and intermediate zones of classic lobules is correspondingly lower and relative volume of damaged hepatocytes is higher in different groups of rats with autoimmune liver damage in comparison with corresponding control groups.

Relative volume of damaged hepatocytes in classic lobules has higher values in the rats with uncorrected autoimmune liver damage and on the background of the usage of

the water baths in case of autoimmune liver damage in each next term of observation in comparison with the previous one and additionally volume has smaller values in the rats with autoimmune liver damage corrected by radon baths. This indicates evident corrective influence of the usage of the radon baths in the case of autoimmune liver damage.

Specific receptors in the liver structure were revealed during lectin histochemical analysis (using of SBA, WGA, PNA, RCA lectins). In the rats with modeling autoimmune liver damage “pathological” receptors present on the hepatocytes and cells of the liver stroma. They are not typical for intact rats.

The effect of the baths’ course with usual river water did not decrease dystrophic and necrobiotic processes in the liver. Histologically, electron-microscopically, lectin histochemically liver structure was similar to that one in the rats with autoimmune damage without correction in analogous investigation terms. Effect of radon α -therapy decreases dystrophic, necrobiotic processes and infiltration of the white blood cells and brings lectin receptor palette mostly to control indexes in the liver structures.

Key words: autoimmune liver damage, liver, morphological changes, radon, rats.

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

АПП	– група щурів з модельованим за схемою аутоімунним пошкодженням печінки
АПП _{н2о}	– щури з модельованим аутоімунним пошкодженням печінки, що підлягалися водним ванним процедурам за певною схемою
АПП _{Ра}	– щури з модельованим аутоімунним пошкодженням печінки, що підлягалися ванним процедурам з радоновою водою за певною схемою
К	– інтактна група щурів, які утримувались у звичайних умовах віварію
К _{н2о}	– контрольна група щурів, яким проводили за певною схемою водні ванні процедури
К _{Ра}	– контрольна група експериментальних тварини, яким проводили за певною схемою радонові ванні процедури
PNA	– лектин арахісу
RCA	– лектин рицини
SBA	– лектин сої
WGA	– лектин зачатків пшениці

Підписано до друку 25.05.2016 р. Замовл. № 138.
Формат 60х90 1/16 Ум. друк. арк. 0,8 Друк офсетний.
Наклад 100 примірників.

Вінниця. Друкарня ВНМУ ім. М.І. Пирогова
Вінниця, вул. Пирогова, 56, 21018

