

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД  
«ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО»**

**Перепелиця Михайло Петрович**

УДК 616.36-008.6-02:616.127-007.17:577.175.522]-053.8/9-092.9

**РОЛЬ МЕТАБОЛІЧНИХ, МЕМБРАНИХ ТА ІМУННИХ ПОРУШЕНЬ В МЕХАНІЗМАХ  
УШКОДЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ДОРОСЛИХ І СТАРИХ ЩУРІВ ЗА АДРЕНАЛІНОВОЇ  
МІОКАРДІОПАТІЇ**

**14.03.04 – патологічна фізіологія**

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

Тернопіль – 2010

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у державному вищому навчальному закладі «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського» МОЗ України

**Науковий керівник:**

доктор медичних наук, професор

**Мисула Ігор Романович**, державний вищий навчальний заклад «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського» МОЗ України, завідувач кафедри медичної реабілітації та спортивної медицини

**Офіційні опоненти:**

доктор медичних наук, професор **Гудима Арсен Арсенович**, державний вищий навчальний заклад «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського» МОЗ України, завідувач кафедри медицини катастроф та військової медицини,

доктор медичних наук, старший науковий співробітник **Зінкович Ігор Іванович**, Донецький національний медичний університет ім. М. Горького МОЗ України, завідувач центральної науково-дослідної лабораторії.

Захист відбудеться 3 вересня 2010 р. об 11 год на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 58.601.01 у державному вищому навчальному закладі «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського» МОЗ України за адресою: м. Тернопіль, Майдан Волі, 1.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці державного вищого навчального закладу «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського» МОЗ України за адресою: 46001, м. Тернопіль, вул. Січових Стрільців, 8.

Автореферат розісланий 29 липня 2010 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради Д 58.601.01

доктор медичних наук, професор

Я.Я. Боднар

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Проблема вікових особливостей організму, незважаючи на успішне вивчення багатьох її аспектів, продовжує зберігати свою медико-соціальну значимість. Зокрема, залишається актуальним вивчення вікової залежності до гіпоксії будь-якого генезу, як найбільш універсальної і типової ланки розвитку патологічного процесу при захворюваннях дихальної, ендокринної систем, системи крові, а особливо серцево-судинної системи (M. Ishihara et al., 2008). Остання проблема значно загострилася в наш час у зв'язку із інтенсивним вивченням основ патогенезу ішемічної хвороби серця з точки зору індивідуальної резистентності організму (W. Rosamond, K. Flegal, G. Friday et al. 2007; Лепявко А.А., 2009).

Однією з експериментальних моделей цього патологічного стану є введення адреналіну в кардіотоксичній дозі (Маркова Е.А., Маркова О.О., 1990, 1997). Незважаючи на значну кількість наукових повідомлень, що відображають зміни функціонального стану організму за цих умов (Дацко Т.В., 2000; Гнатюк М.С., 2002; Посохова К.А., 2004; C. F. Royse, A. G. Royse, R. Rohrlach et al. 2007; Лепявко А.А., 2009), недостатньо вивченим залишається функціональний стан печінки. Важливим аспектом цієї проблеми є також вивчення вікових особливостей формування адаптаційних реакцій організму та реакції печінки на різкі зміни рівня стресорних гормонів, зокрема адреналіну (Kregel K. C., 2007).

В лабораторії кафедри патологічної фізіології Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського протягом багатьох років проводяться дослідження з вивчення особливостей розвитку адреналінових і стресорних уражень серцевого м'яза в залежності від вікової (Мисула І.Р., 1996, 2006; Лепявко А.А., 2009) та індивідуальної (Мисула І.Р., 1984; Хара М.Р., 1988, 2003) реактивності організму. Питання, як змінюється стан печінки за цих умов, залишилось нерозв'язаним.

Печінка, після головного мозку, є одним із найбільш чутливих органів до гіпоксії, а при стресових ситуаціях їй належить провідне місце у забезпеченні організму енергією і формуванні на основі механізмів гомеостазу адаптивних реакцій. Таким чином, печінці належить суттєва роль у патогенезі ішемічної хвороби серця, а з іншого боку, печінка сама зазнає значного ушкодження за даних умов. Ураженню органу при інфаркті міокарда присвячено низку фундаментальних досліджень, однак при цьому не враховується основний принцип превентивної кардіології – індивідуальний підхід до хворого, а отже, його індивідуальна резистентність.

Недостатнє вивчення вікових особливостей розвитку патологічних змін в печінці при дистрофічно-некротичних ураженнях міокарда, які супроводжуються явищами гіпоксії, і обумовило наше дослідження, спрямоване на порівняльне вивчення метаболічних і структурних змін в печінці при адреналіновій міокардіодистрофії у тварин різних вікових груп.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота є складовою частиною науково-дослідної роботи Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського "Клініко-патогенетичні та морфофункціональні особливості ішемічної хвороби серця при супутньому хронічному бронхіті, цукровому діабеті, експериментальному гіпертиреозі, гастродуоденальних виразках та їх диференційована терапія" (№ держреєстрації 0103U001017). Тема дисертаційної роботи затверджена проблемною комісією "Патологічна фізіологія та імунологія" 22.05.2008р. (протокол № 66).

**Мета дослідження.** Встановити особливості пошкодження гепатоцитів при експериментальному адреналіновому ушкодженні міокарда у дорослих і старих тварин.

**Завдання дослідження:**

1. З'ясувати вікові особливості перебігу вільнорадикальних процесів у печінці тварин з адреналіновим ушкодженням міокарда.

2. Дослідити стан антиоксидантної системи печінки у тварин різних вікових груп за умов адреналінового ушкодження міокарда.

3. Встановити особливості функціональних змін клітинної та гуморальної ланок імунітету в залежності від віку за умов дії адреналіну у кардіотоксичній дозі.

4. Дослідити вираженість ендогенної інтоксикації у дорослих і старих тварин за дії адреналіну у кардіотоксичній дозі.

5. З'ясувати особливості структурних змін гепатоцитів на світлооптичному і субмікроскопічному рівнях при дії адреналіну у кардіотоксичній дозі.

6. Провести порівняльний аналіз структурно-метаболічних змін у печінці, залежних від вікових особливостей організму.

*Об'єкт дослідження:* вікові особливості метаболічних, імунних процесів і морфологічних змін у печінці щурів за умов адреналінового ушкодження міокарда.

*Предмет дослідження:* активність процесів ліпідної пероксидації, стан антиоксидантної системи, особливості клітинної та гуморальної ланок імунітету, вираженість ендогенної інтоксикації, морфологічні зміни у печінці тварин за дії адреналіну у кардіотоксичній дозі.

*Методи дослідження:* інтенсивність процесів ліпідної пероксидації оцінювали за концентрацією гідропероксидів ліпідів і ТБК-активних продуктів; стан антиоксидантної системи – за активністю супероксиддисмутази, каталази, вмістом церулоплазміну та SH-груп; стан плазматичних мембран гепатоцитів оцінювали за активністю аланін- та аспартатамінотрансфераз у сироватці крові; показники гуморального імунітету оцінювали за вмістом імуноглобулінів А, М, G, циркулюючих імунних комплексів, клітинного – за показниками фагоцитарної активності лейкоцитів; вираженість ендогенної інтоксикації характеризували за вмістом молекул середньої маси та ступенем сорбційної здатності еритроцитів; структурні зміни оцінювали за допомогою

морфологічних, морфометричних та електронно-мікроскопічних методів. Отримані цифрові результати опрацьовували статистичними методами.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше встановлено, що вікові особливості суттєво впливають на ступінь метаболічних і морфологічних уражень гепатоцитів при дії кардіотоксичної дози адреналіну.

Встановлено, що для старих тварин притаманний високий рівень пероксидації ліпідів при низькій активності антиоксидантної системи.

Доведено, що адреналінове ушкодження міокарда супроводжується суттєвими змінами імунного гомеостазу організму, диспропорційним зростанням вмісту основних класів імуноглобулінів, рівня циркулюючих імунних комплексів, активності комплементу та зниженням фагоцитарної активності лейкоцитів. Ці порушення більш виражені у старих тварин.

Показано, що за дії адреналіну в кардіотоксичній дозі відбувається посилення ендогенної інтоксикації. Маркери ендогенного токсичного синдрому (молекули середньої маси, сорбційна здатність еритроцитів) наростали інтенсивніше в крові старих тварин і в перші доби адреналінової міокардіодистрофії та не поверталися до норми до кінця періоду спостереження.

Виявлені особливості гуморального імунітету та фагоцитозу в старості, підвищений рівень маркерів ендогенної інтоксикації в інтактних тварин старшої вікової групи є одними з факторів, що визначають кардіотоксичність адреналіну.

За допомогою гістологічного, морфометричного, електронно-мікроскопічного методів вперше встановлено більш виражений пошкоджуючий вплив кардіотоксичної дози адреналіну на мембранні структури гепатоцитів старих тварин.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати комплексного дослідження печінки суттєво доповнюють уявлення про патогенез експериментального стресового ушкодження органів і систем. Виявлені в роботі взаємовідношення метаболічних і структурних змін мають велике практичне значення в плані розуміння механізмів формування дистрофічного ураження міокарда. В роботі розвивається новий напрямок досліджень в патологічній фізіології – комплексне вивчення патогенезу пошкоджень органів в залежності від віку.

Результати досліджень впроваджено у навчальний процес кафедр патологічної фізіології Запорізького державного медичного університету, ВДНЗ "Українська медична стоматологічна академія", Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Івано-Франківського національного медичного університету, Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського, кафедри загальної і клінічної патологічної фізіології Одеського державного медичного університету.

**Особистий внесок здобувача.** Автору належить самостійна розробка дослідницької програми. Самостійно проведене вивчення літератури з теми. На основі встановлення

актуальності та ступеня вивчення проблеми сформульовано мету та завдання роботи, обґрунтовано вибір об'єкта і методів дослідження. Самостійно проведено аналіз та розробку отриманого матеріалу, обговорення результатів дослідження, сформульовано висновки та практичні рекомендації.

В процесі одержання наукових результатів, викладених в дисертації, всі етапи дослідження автор виконав самостійно. Облік, аналіз первинного матеріалу, статистична обробка результатів, формулювання основних положень та висновків роботи виконані здобувачем самостійно.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, та актах впровадження, що стосується науково-практичної новизни викладено дані, які отримані автором у процесі виконання дисертаційної роботи.

**Апробація результатів дисертації.** Результати досліджень, що включені до дисертації, оприлюднені на науково-практичній конференції «Здобутки клінічної і експериментальної медицини» (Тернопіль, 2006), III Міжнародній науково-практичній конференції «Проблеми та перспективи методичних підходів до аналізу стану здоров'я» (Луганськ, 2009); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Довкілля і здоров'я» (Тернопіль, 2009); науково-практичній конференції «Гастроентерологія для лікарів-інтерністів: теоретичні та прикладні аспекти» (Донецьк, 2009).

**Публікації.** За результатами дисертації опубліковано 6 наукових праць, з них 3 статті в фахових наукових журналах, рекомендованих ВАК України, 3 роботи в матеріалах наукових конференцій.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертація викладена на 155 сторінках (основний обсяг становить 110 сторінок) і складається із вступу, 5 розділів, висновків, списку використаної літератури (всього 311 джерел), додатків. Робота ілюстрована 10 таблицями та 26 рисунками.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріал і методи дослідження.** Експерименти проведено на 229 білих нелінійних щурах-самцях, яких утримували в звичайних умовах та на стандартному раціоні віварію. Кожна експериментальна група нараховувала 6-10 тварин. Адреналінове ушкодження міокарда (АУМ) моделювали шляхом одноразового внутрішньочеревного введення 0,18 % розчину адреналіну гідротартрату («Дарниця», Україна) з розрахунку 0,5 мг/кг маси тіла.

Комісією з біоетики Тернопільського державного медичного університету імені І.Я. Горбачевського (протокол № 15 від 18.01.2008 р.) встановлено, що проведені наукові дослідження на тваринах відповідають етичним вимогам згідно з принципами Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (2000 р.), Конвенції Ради

Європи про права людини та біомедицину (1997 р.), відповідним положенням ВООЗ, Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Стразбург, 1986).

Експерименти проводили на щурах двох вікових періодів: дорослі (8-10 місячні, масою 180-220 г) та старі (18-24 місячні, масою 300 г і більше). Було проведено три серії дослідів. У щурів першої серії забирали кров для визначення показників гуморального імунітету, фагоцитозу та ендогенної інтоксикації, а також печінку для гістологічного дослідження. Наступну серію дослідів проводили з біологічним матеріалом – печінку і кров піддавали біохімічному дослідженню для визначення показників пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидантної системи, активності енергозабезпечувальних ферментів та амінотрансфераз. Декапітацію в умовах тіопентал-натрієвого знеболювання здійснювали через 1, 3 (період розвитку максимальних порушень), 7 та 14 (період зменшення ушкоджень, віддалені терміни) діб після ін'єкції адреналіну (Дацко Т.В. 2000). Субстратами дослідження були плазма крові, сироватка крові, цільна кров, гомогенати печінки та печінка тварин.

Кров забирали у дві пробірки, попередньо додавши на дно однієї з них 5% розчин цитрату натрію. Для отримання сироватки цільну кров центрифугували при 3000 об./хв протягом 20 хв. Вийняту печінку відмивали від крові у фізіологічному розчині натрію хлориду, висушували фільтрувальним папером і подрібнювали ножицями на дрібні шматки. Всі маніпуляції проводили при охолодженні, витримуючи температуру 0 – 4 °С. Тканину зважували на торсійних терезах, переносили в гомогенізатор Поттера-Ельвегейма, наливали туди фізіологічний розчин у співвідношенні 1:10 і гомогенізували протягом 2 хв. Одержаний гомогенат відразу досліджували.

Інтенсивність процесів ліпідної пероксидації оцінювали за концентрацією гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) і ТБК-активних продуктів; стан антиоксидантної системи – за активністю супероксиддисмутази, каталази, вмістом церулоплазмину та SH-груп; стан плазматичних мембран гепатоцитів оцінювали за активністю аланін- та аспаратамінотрансфераз у сироватці крові; показники гуморального імунітету оцінювали за вмістом імуноглобулінів А, М, G, циркулюючих імунних комплексів, клітинного – за показниками фагоцитарної активності лейкоцитів; вираженість ендогенної інтоксикації характеризували за вмістом молекул середньої маси та ступенем сорбційної здатності еритроцитів; структурні зміни оцінювали за допомогою морфологічних та електронно-мікроскопічних методів. Отримані цифрові результати опрацьовували методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента (Гублер Е.В., 1978).

### **Результати власних досліджень та їх обговорення**

**Показники пероксидного окиснення ліпідів, антиоксидної системи, активності амінотрансфераз та ферментів енергозабезпечення в печінці і крові дорослих та старих**

**тварин за розвитку адреналінового ушкодження міокарда.** Отримані нами результати свідчать, що при АУМ відбувається активація вільнорадикального окиснення ліпідів, що підтверджується накопиченням в крові і печінці піддослідних тварин проміжних (ГПЛ) та одного з кінцевих (ТБК-активних продуктів) продуктів ПОЛ. Активація реакцій пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) за дії адреналіну у кардіотоксичній дозі була максимальною в перші доби експерименту і більшою у тварин старшої вікової групи. Це вказує на значнішу ушкоджуючу дію адреналіну на серцевий м'яз старих щурів.

У зв'язку із зростанням ліпопероксидації, нам було важливо вивчити, як змінюється стан антиоксидної системи (АОС) у дорослих і старих тварин у динаміці розвитку адреналінового пошкодження серця. З цією метою нами досліджено стан ферментної та неферментної ланок даної системи. Беленічев І.Ф. та співавт. (2000 р.) відзначають, що антиоксидантна система, яка є однією із найважливіших захисних систем органів і тканин, перешкоджає розвитку пошкоджуючих вільнорадикальних процесів, здатна до активації або пригнічення, залежно від умов постачання кисню в організм. В літературі є дані про первинне зниження активності антиоксидантної системи при некротичних ураженнях серця.

Введення тваринам адреналіну в кардіотоксичній дозі зумовлювало суттєве зменшення активності СОД в печінці щурів обох вікових груп вже на 1-шу добу експерименту. Проте, активність СОД в печінці старих тварин у цей період була нижчою від аналогічної величини у дорослих, а станом на 3-ю добу АУМ ця відмінність була ще більш вираженою. У крові у ці ж терміни активність СОД мала аналогічну спрямованість. Однією з основних причин пригнічення активності ензиму вважають різке пригнічення процесів транскрипції і трансляції в гепатоцитах під впливом різних чинників. Окрім цього, вагомим чинником інгібування активності СОД під впливом адреналіну може бути надмірне збільшення у клітинах концентрації синглетного кисню, пероксиду водню, гідроксильних радикалів, гідропероксидів, що призводить до незворотнього відновлення міді в активному центрі ферменту або ж окиснення у ньому деяких функціональних груп, зокрема, тіолових.

Активність КТ в печінці дорослих та старих тварин на 3-тю добу експерименту була достовірно нижчою від аналогічного показника інтактної групи, проте у старих тварин ця відмінність була більш вираженою. У подальші терміни достовірність відмінностей за активністю КТ між дорослими і старими щурами зберігалась. Водночас у плазмі крові в перші доби експерименту нами встановлено достовірне підвищення активності КТ як у дорослих, так і у старих піддослідних щурів, що, на нашу думку, свідчить про порушення цілісності плазматичних мембран і виходу цього внутрішньоклітинного ензиму в кров. Очевидно, що руйнування плазматичних мембран і мембран пероксидом, де знаходиться основна кількість ферменту, призводить до його посиленого виходу в кров. Найбільш виражене зростання каталазної



активності спостерігалось у плазмі старих щурів, а у печінці зафіксовано найбільше зниження активності ферменту, що, на наш погляд, є результатом інтенсивнішого, ніж у тварин інших вікових періодів, ініціювання у них процесів ліпопереокиснення.

У наших дослідженнях рівень SH-груп в печінці контрольних старих щурів був нижчим, порівняно з дорослими. Ці дані підтверджують наведені вище результати про зниження з віком активності ферментів АОС.

В умовах розвитку АУМ, через 1-у добу після введення адреналіну, вміст сульфгідрильних груп в гомогенатах печінки обох груп щурів був нижчий порівняно з аналогічними показниками інтактних тварин. На 3-ю, 7-му і 14-ту добу АУМ рівень SH-груп в печінці піддослідних щурів був нижчий показника інтактних тварин відповідних вікових груп, а у експериментальних тварин старшої вікової групи, порівняно з молодшою, був суттєво нижчим, хоча відзначалася стійка тенденція до зростання вмісту тіолових груп у печінці дорослих і старих тварин на 3-ю, 7-му і 14-ту добу експерименту.

Разом з тим у крові через 1-у добу після введення адреналіну в кардіотоксичній дозі відбувалося зростання вмісту SH-груп як у дорослих, так і у старих експериментальних тварин. В подальшому спостерігалось достовірне зниження рівня сульфгідрильних груп нижче від контрольних значень в обох групах щурів. Вміст SH-груп крові (3-я доба) у старих піддослідних щурів становив 64,7 % ( $P < 0,001$ ), а у дорослих 72,8 % ( $P < 0,001$ ) від норми. Суттєво нижча концентрація тіолових груп у крові експериментальних тварин відносно рівня інтактних щурів встановлена нами і на 14-у добу АУМ.

Динаміка вмісту SH-груп в печінці дорослих і старих піддослідних тварин у віддалені терміни адреналінового пошкодження серця мала тенденцію, аналогічну змінам у крові. Станом на 14-у добу АУМ рівень тіолових груп в печінці старих щурів, порівняно з молодшою віковою групою, був нижчим на 17,2 % ( $P < 0,01$ ). Відомо, що процеси біосинтезу цистеїну з метіоніну і глутатіону з цистеїну, а також утворення НАДФН, глюкозо-6-фосфату, біологічно активних сполук двовалентного селену та інших субстратів, необхідних для функціонування глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази є АТФ-залежними. А беручи до уваги отримані нами факти дезорганізації під впливом адреналіну біоенергетичних процесів і зменшення кількості АТФ у печінці, правомірно вважати, що порушення мітохондріального окиснення відіграє суттєву роль у механізмах пригнічення системи глутатіонпероксидази (ГП). На активності ГП відображається зниження під впливом ксенобіотиків концентрації  $\alpha$ -токоферолу в гепатоцитах. Останній необхідний для підтримки активної біологічної форми селену, яку він здійснює шляхом попередження від окиснення селенвмісних негемінових залізопротеїнів.

Цікаві результати отримані нами при дослідженні у плазмі крові тварин з токсичним гепатитом концентрації мідьвмісного білка, якому притаманні ферментативні антиоксидні

властивості – церулоплазміну (ЦП). Виявилося, що незважаючи на той факт, що церулоплазмін повністю синтезується мембранозв'язаними полісомами гепатоцитів, його вміст в плазмі крові за АУМ зростає, причому більше у дорослих щурів і в перші доби експерименту. Через 1-у добу від введення адреналіну у кардіотоксичній дозі рівень ЦП в крові дорослих тварин перевищував показники даної інтактної групи в 1,46 раза, а в старих – в 1,26 раза. Ця тенденція спостерігалася і на 3-ю добу експерименту, і вміст вказаного мідьвмісного ферменту в зазначений період у старих піддослідних щурів був на 20,0 % ( $P < 0,05$ ) меншим, порівняно з дорослими тваринами. У наступні терміни розвитку АУМ концентрація ЦП знижувалась в обох групах тварин, але рівня інтактних не досягла.

Враховуючи ті гострі некрозо-дистрофічні зміни в печінці, що відбуваються за даної патології, малоймовірним уявляється підвищення концентрації ЦП внаслідок адаптивної активації його синтезу, направленої на збільшення загального фонду антиоксидантів. Можливо, що збільшення вмісту ферменту в плазмі пов'язано зі зміною його катаболізму. В нормальних умовах катаболізм церулоплазміну в печінці відбувається за допомогою нейрамінідази, яка здійснює його десіалування до асіалоцерулоплазміну, здатного виводитися з організму. В дистрофічно і некротично змінених клітинах десіалізація менш ефективна і, таким чином, розпад ЦП за хімічного ураження печінки пригнічується, що може бути однією з причин підвищення його вмісту в плазмі крові.

Отже, розвиток АУМ спричиняє суттєві зрушення в АОС тварин: змінюється активність ферментної та неферментної ланок АОС (знижується активність СОД, КТ, рівень SH-груп в печінці та підвищується вміст ЦП з фазними змінами активності КТ і вмісту SH-груп в крові). Прояви дії адреналіну у кардіотоксичній дозі є більш вираженими в перші доби експерименту і більше у старих тварин, що підтверджувалося неповною нормалізацією показників АОС в печінці до кінця досліду

Нами встановлено, що, активність АсАТ сироватки крові у дорослих тварин на 1-у добу АУМ зросла і становила 192,1 % ( $p < 0,001$ ), на 3-ю добу – 138,6 % ( $p < 0,001$ ) від норми. Водночас у старих щурів, активність вказаного цитозольного ферменту становила 256,6 % ( $p < 0,001$ ) і 177,6 % ( $p < 0,001$ ) від норми відповідно. При цьому відмінності між дорослими і старими тваринами в зазначені періоди досліду були істотними, і рівень АсАТ (3-я доба) у старих щурів у 1,31 ( $p < 0,001$ ) раза переважав аналогічну величину у дорослих.

У наступні терміни дослідження активність АсАТ у сироватці крові щурів знижувалася, досягаючи до 14-ї доби АУМ рівня інтактних у дорослих і перевищуючи контрольні значення у старих експериментальних тварин (на 14,0 %,  $p < 0,05$ ).

Достовірних змін в процесі адреналінового пошкодження серця зазнав ще один фермент цитолізу – аланін-амінотрансфераза (АлАТ). При вивченні динаміки активності цього ферменту

крові в уражених адреналіном тварин встановлена аналогічна АсАТ спрямованість змін протягом досліджу. Варто відзначити, що активність цитолітичних процесів у сироватці піддослідних груп тварин протягом досліджу у переважній більшості була виражена за рахунок фракції АсАТ.

**Стан імунологічної реактивності, фагоцитозу та ендогенної інтоксикації у тварин різних вікових груп за адреналінового ушкодження міокарда.** Порівняльний аналіз концентрації сироваткових імуноглобулінів класів А, М, G інтактних тварин обох вікових груп показав, що в старих щурів, на відміну від дорослих, рівень Ig А був вищим, ніж у дорослих. Поряд із цим рівень Ig М в сироватці крові згаданих вище груп тварин суттєво не відрізнявся.

Розвиток АУМ спричиняв суттєві зміни вмісту імуноглобулінів сироватки крові щурів уже на 1-у добу досліджу, причому найбільш істотні з них стосувалися тварин старшої вікової групи. Через 3 доби після введення адреналіну в кардіотоксичній дозі у дорослих піддослідних щурів нами встановлено зниження вмісту імуноглобулінів у сироватці крові порівняно з попереднім терміном, причому істотних змін зазнав лише Ig А. Дещо відмінною була динаміка вмісту імуноглобулінів у вказаний період експерименту у щурів старшої вікової групи. Рівень Ig М, порівняно з попереднім терміном, зріс на 35,4 % ( $p < 0,01$ ), а концентрація Ig А, Ig G достовірно від значень 1-ї доби АУМ не відрізнялася.

Високий вміст сироваткових імуноглобулінів обох груп щурів виявлено і через тиждень від введення адреналіну. Концентрація останніх істотно перевищувала показники відповідних інтактних груп. При цьому вміст Ig А у старих тварин, порівняно з дорослими щурами, був вищим на 17,1 % ( $p < 0,05$ ). Значення інших двох класів імуноглобулінів у старих піддослідних тварин відносно дорослих мали тенденцію до зростання.

До 14-ї доби АУМ, порівняно з 7-ю, відбувалося зниження концентрації сироваткових імуноглобулінів як у дорослих, так і у старих експериментальних тварин, проте вірогідних змін зазнали лише показники Ig А, Ig G у щурів молодшої вікової групи.

Наведені результати свідчать, що концентрації основних класів імуноглобулінів підвищувались нерівномірно та диспропорційно, що вказує на напруженість та нестабільність імунних реакцій організму. На ранніх етапах адренергічного навантаження активація імунної системи, її гуморальної ланки, очевидно зумовлена реакцією на пошкодження, спрямованою на підтримання гомеостазу – «аварійний» синтез і викид імуноглобулінів. Очевидно, таке зниження рівня імуноглобулінів пояснюється не тільки як результат проявів токсичного ураження печінки, а й є наслідком прямої токсичної імуносупресивної дії адреналіну, що, можливо, обумовлено зменшенням під його впливом кількості лімфоцитів у тимусі і селезінці. Слід зазначити, що особливо низький рівень вищезазначених імуноглобулінів спостерігається у тварин старшого віку, що, швидше всього, обумовлено більшою чутливістю їх імунної системи до токсичних чинників. Можливо, зазначена реакція є також відповіддю на модифіковані білки печінки. На 7-му, 14-ту

добу АУМ підвищений вміст імуноглобулінів піддослідних груп тварин ймовірно є відображенням утворених антитіл проти пошкоджених клітин, зокрема печінки, та пригнічення фагоцитарної активності, що підтверджується динамікою показників фагоцитарної активності лейкоцитів (ФАЛ) та рівнем циркулюючих імунних комплексів (ЦІК).

Так, на 1-шу добу АУМ рівень ЦІК в сироватці крові дорослих і старих тварин зростає. Через 3 доби після введення адреналіну концентрація ЦІК сироватки крові у досліджуваних групах тварин наростала і становила в дорослих щурів 314,2 % ( $p < 0,001$ ), а у старих – 182,6 % ( $p < 0,001$ ) від норми.

Аналізуючи динаміку ЦІК в більш пізні терміни спостереження (7-14-а доба експерименту), варто відзначити достовірно вищі значення цього показника, порівняно з контрольними даними, в обох групах тварин. Проте, рівень останніх у вказаний період експерименту, у тварин старшої вікової групи, порівняно з дорослою, був вищим на 42,0 % ( $p < 0,001$ ). Слід вказати, що концентрація ЦІК у дорослих щурів з 7-ї до 14-ї доби досліджу знизилася на 29,8 % ( $p < 0,001$ ). Водночас у старих експериментальних тварин у ці ж терміни встановлено лише тенденцію до зниження ЦІК. Менш значне зростання вмісту ЦІК у старих тварин ми спостерігали у всі періоди дії адреналіну в кардіотоксичній дозі.

Під час проведення порівняльного аналізу комплементарної активності сироватки крові обох груп тварин за дії адреналіну в кардіотоксичній дозі було виявлено достовірне її зростання вже на 1-у добу експерименту та практично стійке підвищення впродовж усього періоду спостереження, причому більшою мірою у дорослих тварин. Активність комплементу в здорових тварин з віком знижується. Так, рівень його в сироватці крові дорослих щурів становив  $(36,85 \pm 0,85)$  гем. од., перевищуючи аналогічний показник у старих тварин на 8,0 % ( $p < 0,05$ ). На 1-шу добу розвитку АУМ комплементарна активність сироватки крові відносно контролю була підвищеною як у дорослих, так і старих щурів.

Через 3 доби після введення адреналіну (період максимальної активності комплементу) в сироватці крові дорослих тварин активність досліджуваного показника була у 1,49 ( $p < 0,001$ ) рази вищою за показник інтактної групи, а у старих щурів – у 1,36 рази, відповідно. При порівнянні комплементарної активності сироватки крові між досліджуваними групами тварин встановлено, що в зазначений термін даний показник у дорослих піддослідних щурів відносно старих був на 19,5 % ( $p < 0,001$ ) вищим. На 7-у добу АУМ, порівняно з 3-ю добою, активність комплементу знизилась на 23,3 % ( $p < 0,001$ ) і до кінця експерименту суттєво, на 9,7 % ( $p < 0,01$ ) перевищувала контрольну величину. Разом з тим у старих дослідних щурів комплементарна активність сироватки крові вірогідно не відрізнялася від значень попереднього терміну спостереження, однак у наступний період відбувалося різке зниження вказаного імунологічного параметра до вихідного

рівня, відтак активність комплементу сироватки крові станом на 14-у добу АУМ у дорослих щурів була в 1,27 ( $p < 0,001$ ) рази вищою, ніж у тварин старшої вікової групи.

Таким чином, за дії адреналіну в кардіотоксичній дозі відбуваються суттєві зміни в гуморальній ланці імунітету – диспропорційно зростає вміст основних класів імуноглобулінів, рівень ЦК, активність комплементу. Ці порушення більш виражені у старих тварин. Стійке підвищення рівня ЦК, високі значення імуноглобулінів у сироватці крові старих щурів вказують на значно тривалішу реституцію їх імунологічних параметрів до 14-ї доби АУМ.

Нами встановлено, що показники ФАЛ цільної крові дорослих і старих інтактних щурів відрізнялись. Так, в останніх, порівняно з дорослими тваринами, виявлено достовірно нижчі значення фагоцитарного числа (ФЧ) (на 7,5 %,  $p < 0,01$ ), а % фагоцитуючих лейкоцитів – вірогідно не відрізнявся.

За дії адреналіну в кардіотоксичній дозі суттєво погіршувалася ФАЛ у досліджуваних групах тварин, причому значніші порушення спостерігалися в старих піддослідних щурів. Характерним було те, що порушення фагоцитозу у старих тварин були виявлені вже на 1-у добу АУМ, водночас ФАЛ дорослих експериментальних тварин у цей термін мала лише тенденцію до зниження.

Через 3 доби після введення адреналіну встановлено різке пригнічення ФАЛ як у старих, так і у дорослих піддослідних щурів. При порівнянні показників дорослих і старих щурів виявлено, що у вказаний період кількість фагоцитуючих лейкоцитів у крові старих тварин була нижчою на 10,3 % ( $p < 0,01$ ), а ФЧ було нижчим на 17,8 % ( $p < 0,001$ ). На 7-у добу розвитку АУМ ФАЛ була зниженою в обох групах щурів, при цьому відмінності між дорослими і старими зберігалися і достовірно відрізнялися між собою. До кінця експерименту показники ФАЛ у дорослих тварин зросли, але рівня інтактних не досягли при стійкому пригніченні їх у старих.

Таким чином, за дії адреналіну в кардіотоксичній дозі суттєво пригнічується ФАЛ у тварин обох вікових груп, причому порушення більш виражені у старих тварин, на що вказує глибока депресія їх фагоцитарної системи до 14-ї доби АУМ.

Як вказують ряд дослідників, характер імунної відповіді за розвитку патології певною мірою залежить від ступеня ендогенної токсемії. Крім того відомо, що молекули середньої маси (МСМ) характеризуються кардіодепресивною та мембранодеструктивною дією. Тому з'ясування особливостей перебігу синдрому ендогенної інтоксикації у тварин за розвитку АУМ з урахуванням вікових особливостей, можливо, дасть новий поступ в розумінні механізмів ураження міокарда, встановить залежність його від віку.

Ступінь вираженості ендогенного токсичного синдрому ми оцінювали за вмістом у сироватці крові МСМ та рівнем сорбційної здатності еритроцитів (СЗЕ).

Вже на 1-у добу після введення адреналіну нами встановлено збільшення вмісту МСМ/254 і МСМ/280 як у дорослих, так і у старих піддослідних тварин, але найвишого рівня вміст фракцій МСМ у сироватці крові піддослідних груп щурів сягнув на 3-ю добу експерименту і більше у тварин старшої вікової групи. Аналізуючи динаміку маркерів ендogenous інтоксикації (ЕІ) в більш пізні терміни спостереження (7-14-а доба експерименту), варто відзначити тривалу персистенцію токсичних метаболітів в організмі старих тварин, на що вказують достовірно вищі величини МСМ/254, МСМ/280. Станом на 14-у добу АУМ рівень МСМ/254 в сироватці крові старих піддослідних щурів становив 115,5 % ( $p < 0,01$ ), МСМ/280 – 126,6 % ( $p < 0,001$ ) від норми. Водночас у дорослих тварин в зазначений термін вміст МСМ/254 досягав рівня інтактних тварин, а концентрація МСМ/280 становила 111,6 % від норми. Зростання МСМ значнішим був для пулу МСМ/280. У всі періоди спостереження нами встановлено переважання рівня МСМ/254 і МСМ/280 в сироватці крові старих експериментальних тварин відносно дорослих. Це може бути наслідком як безпосереднього токсичного впливу, так і пригнічення функціональної активності системи детоксикації, внаслідок чого може порушуватись знешкодження ендogenous токсинів і нагромадження проміжних продуктів метаболізму.

Про вікові зміни ЕІ за умов розвитку АУМ свідчить також величина СЗЕ. Отримані нами результати свідчать, що у старих інтактних тварин рівень СЗЕ був вищим, ніж у дорослих щурів. Ці дані підтверджують наведені вище результати про зростання в здорових тварин в процесі старіння рівня ЕІ.

Після введення адреналіну в кардіотоксичній дозі встановлено вірогідне зростання СЗЕ в обох групах тварин. Ступінь зростання цього показника, залежав від терміну дії адреналіну та відрізнявся в старих і дорослих щурів. Так, рівень СЗЕ в старшій віковій групі на 3-ю добу експерименту, порівняно з контролем, був достовірно вищим, ніж у дорослих. В наступні терміни дослідження величина СЗЕ обох груп щурів знижувалася, більшою мірою у дорослих тварин. Рівень СЗЕ у дорослих експериментальних тварин до 14-ї доби АУМ нормалізувався, а у старих був вищим за контрольні значення, при цьому СЗЕ крові старих дослідних щурів була в 1,15 ( $p < 0,01$ ) раза вищою відносно дорослих тварин.

Отже, за дії адреналіну в кардіотоксичній дозі розвивається синдром ендogenous інтоксикації, про що свідчить ріст маркерів ЕІ – молекул середньої маси (МСМ/254, МСМ/280) та СЗЕ. Вираженість синдрому є більшою у старих тварин і в перші доби експерименту.

Таким чином, зазначені дані вказують на різницю метаболічних процесів у гепатоцитах тварин різного віку, а отже, можна сподіватись на відмінність їх відповіді на стресовий подразник.

**Особливості морфологічних змін печінки дорослих і старих тварин за розвитку адреналінового ушкодження міокарда.** Морфологічними дослідженнями встановлено, що печінка дорослих і старих тварин має однотипну будову. Центральні вени мало або помірно -

повнокрівні, навколо них відмічається радіальне розміщення балок гепатоцитів і синусоїдних капілярів. Гепатоцити мають чіткі контури, цитоплазма їх рожева, ядра округлої форми. Глікоген в помірній кількості виявляється переважно в гепатоцитах централобулярної зони. Електронно-мікроскопічно в каріоплазмі гепатоцитів переважає еухроматин, ядрця розміщені ексцентрично. Мітохондрії округлої форми з помірно електронно-щільним матриксом. Ендоплазматичний ретикулум і комплекс Гольджі представлений ламінарними структурами, іноді з пухирчатими розширеннями. Вміст глікогену помірний.

Відповідно до даних електронно-мікроскопічного аналізу, на першу годину досліду спостерігається порушення капілярного кровотоку, підвищення транскапілярного обміну і початкові прояви альтерації ендотеліоцитів. Більш виражену ступінь набряку і деструкції ендотеліоцитів з розволокненням базальної мембрани ми спостерігали у старих тварин. Це призводило до підвищення судинної проникливості з розвитком периваскулярного набряку. Отже, створювалися умови для порушення капілярно-паренхіматозного співвідношення. В кінцевому етапі розвивалися зерниста, жирова і гідропічна дистрофії гепатоцитів, що відображалось на функціональній здатності печінки. Якщо перший тип дистрофії слід розглядати як прояв адаптивних механізмів, то два інших свідчили про їх зрив.

Структурна субклітинна перебудова гепатоцитів практично торкалася всіх їх компонентів. В першу чергу відбувалася зміна енергетичного апарату забезпечення функцій клітини. Більшість мітохондрій знаходились в стані гіпертрофії і набухання. В останніх кількість крист зменшена, або фрагментована, а матрикс, як правило, просвітлений, що свідчить про енергетичне виснаження вказаних органел.

Таким чином, отримані нами морфологічні дані свідчать, що через годину після введення кардіотоксичної дози адреналіну в печінці розвивається низка морфо-функціональних змін, які поєднують як ушкоджуючі, так і адаптивні механізми. Менш стійкими до дії адреналіну, а отже і експериментального стресу, виявилися старі тварини.

Комплексним дослідженням печінки на 24 годину після введення кардіотоксичної дози адреналіну показано, що поряд із деструктивними змінами активуються процеси компенсаторно-приспосовувального характеру, направлені на відновлення функції печінки.

Про активацію процесів внутрішньоклітинної регенерації, як найбільш універсальної на 24 годину після введення кардіотоксичної дози адреналіну, свідчать морфологічні дані. Гістологічно встановлено, що поряд із гепатоцитами з ознаками дистрофії, більшість зберігають звичайну будову і тинкторіальні властивості, що створює асинхронність, "мозаїчність" пошкоджень. Слід зауважити, що в цей період зростає кількість двоядерних і темних гепатоцитів. Останні, інколи, утворювали цілі дольки. На відміну від інтактних тварин проглядаються розширенні просвіти Дісе. Гепатоцити збільшені в об'ємі. Відмічається дисконкомплексація балок у часточках. Цитоплазма

центролобулярних гепатоцитів інтенсивно сприймає барвник. Збільшується кількість пиловидних крапель жиру у поєднанні із зменшенням гранул глікогену. Цитоплазма периферійних гепатоцитів зерниста, сітчастої структури. В ній є велика кількість дрібних вакуолей, накопичуються дрібні крапельки жиру, глікоген не виявляється.

Електронно-мікроскопічне дослідження на 24 год досліду теж свідчить на користь стимуляції компенсаторно-приспосувальних процесів і зменшення вираженості деструкції. Характерною ознакою для цього періоду було зменшення вираженості периваскулярного і цитоплазматичного набряку. Часто в одному капілярі спостерігалась наявність "світлих і темних" ендотеліоцитів. В перших відмічались ознаки деструкції, а в других - активація мікропіноцитозу.

Останнє свідчить про посилення обміну через ендотелій капіляру. Таку перебудову капілярів ми розцінюємо як прояв гетерогенності, направлений на збереження резервних можливостей в системі кровообігу. Енергетичний апарат гепатоцитів, в основному, зберігав свою структуру. Слід зазначити, що у цей період експерименту, поряд із мітохондріями, яким були притаманні ознаки енергетичного виснаження, зустрічались органели з явищами біогенезу. Останній поєднувався з гіпертрофією органел, ґрунтовим розміщенням і наявністю дрібних мітохондрій із щільним матриксом. Таким чином, розвивається компенсаторний процес у вигляді внутрішньоклітинної регенерації. Аналіз електронограм також засвідчив "нормалізацію" вмісту глікогену.

Таким чином, зазначені дані засвідчують, що через 24 години після введення кардіотоксичної дози адреналіну морфо-функціональні процеси в печінці переходять на більш збалансований режим. Такий перехід інтенсивніше виражений у дорослих і менше – у старих тварин.

У експериментальних щурів з вираженими старечими змінами та модельованою АУМ на першу добу гістологічні дослідження виявляють зміни аналогічні до змін у першій віковій експериментальній групі. Серед особливостей можна відмітити більш виражені деструктивні зміни периферійних гепатоцитів, а також наявність поодиноких двоядерних гепатоцитів центробазиллярного сектору. Зустрічаються обширні гістіолімфоцитарні інфільтрати в перипортальних ділянках.

Гепатоцити набухають, спостерігається дисконкомплексація пластинок у часточках. Цитоплазма клітин сітчастоподібна містить численні різні за розмірами вакуолі. Спостерігається каріолізіс та цитоліз гепатоцитів.

На третю добу експерименту у старих щурів відмічено посилення патологічних змін у периферійних відділах часточки. Дистрофічні прояви розвиваються від периферії до центру. Повнокрів'я центральних вен та синусоїдів помірно. Периферійні гепатоцити не мають чітких меж, часто характеризуються плазморексисом. В інших цитоплазма дрібнозерниста,



вакуолізована. Гістологічно виявляються різних розмірів краплі жиру, глікоген відсутній. Комплексація пластинок порушена.

В центральному секторі комплексація балок теж порушена внаслідок набухання цитоплазми гепатоцитів. Простори розширені, містять гомогенну еозинфільну масу. По ходу синусоїдів відмічається помірна лімфоцитарна інфільтрація. Ядра Купферовських клітин збільшені, полігональної форми, гіперхромні. Зазначені клітини переважно скупчуються біля центральних вен.

В перипортальних відділах спостерігається значна лімфогістіоцитарна інфільтрація, набряк, розволокнення колагенових білків та ознаки плазморагії.

У тварин пострепродуктивного віку зміни печінки є аналогічними, але більш виражені. Суттєво розвинулась дисконкомпексація балок у всіх відділах часточки. Дистрофічним і некробіотичним процесом уражені переважно периферійні гепатоцити. У перипортальних трактах виявлялася лімфоплазмоцитарна інфільтрація. Збільшується кількість фібробластів.

Результати гістологічного дослідження дорослих тварин, що були проведені через тиждень після уведення кардіотоксичної дози адреналіну вказують на зменшення проявів набряку строми і застою крові в синусоїдах. Водночас зберігається зернистість цитоплазми гепатоцитів. У загальній якісній характеристиці печінкових клітин переважають гепатоцити великих розмірів, що зустрічаються переважно в централобулярних відділах. Вони містять одне велике ядро, або ж по два малих. Це вказує на переважання регенераторних процесів в даний період експерименту. Останнє підтверджується збільшенням кількості фібробластів та фіброцитів за ходом перипортальних трактів. Глікоген виявляється переважно в гепатоцитах, що розміщені біля центральних вен. У гепатоцитах периферійних відділів виявляли білі пілоподібні краплі жиру в той час як гранули глікогену відсутні.

Проведені дослідження гістопрепаратів печінки із щурів з вираженими старечими змінами через тиждень після АУМ вказують на активацію компенсаторно-приспосувальних процесів, що виражалися у збільшенні кількості двоядерних печінкових клітин та об'єму централобулярних гепатоцитів. Водночас спостерігалися більш виражені прояви гідропічної та жирової дистрофії периферійних гепатоцитів. Цей феномен ми пов'язуємо із посиленням гіпоксичних проявів, що виникла внаслідок капіляризації синусоїдів та дезорганізації сполучної тканини за ходом артеріол і венул портальних трактів. В цих ділянках спостерігалася значна клітинна інфільтрація, що складалася із лімфоцитів, плазмоцитів, фібробластів і фіброцитів. Поряд з цим наявність сегментоядерних лейкоцитів навколо поодиноких некротично змінених гепатоцитів свідчить про незавершеність гострого періоду перебігу патологічного процесу. Характерно, що зростання кількості та величини жирових крапель у гепатоцитах відбувається на фоні відсутності гранул глікогену в цитоплазмі клітин.

Проведені гістологічні дослідження печінки дорослих тварин на 14 добу після введення кардіотоксичної дози адреналіну засвідчують переважання процесів відновлення над процесами ушкодження.

Гепатоцити розміщені у вигляді пластин. Орієнтація останніх дещо порушена в периферійних відділах часточки. Об'єм клітин збільшений, відмічається наявність двоядерних клонів і активізація їх поділу. Водночас відмічаємо ознаки капіляризації синусоїдів і фіброз перипортальних трактів. На відміну від описаних вище змін, у щурів 2-ої вікової групи на 14 добу після введення кардіотоксичної дози адреналіну поряд із активізацією процесів регенерації спостерігалася наявність дистрофічних змін гепатоцитів.

З швидким розвитком гідропічної дистрофії пов'язана практична відсутність в печінці змін компенсаторного характеру, що характерно для гепатоцитів старих тварин.

У наших дослідах при електронно-мікроскопічних дослідженнях постійно визначаються ознаки порушення енергетичного метаболізму, особливо у старих тварин: зменшення мітохондрій і їх поліморфізм, переважання набряклих форм з фрагментованими кристами. В гепатоцитах зростає число гранул ліпофусцину і активність кислої фосфатази, пошкоджується стабільність лізосомальних мембран. Зміни енергетичного метаболізму, підвищення ПОЛ, прогресування жирової та білкової дистрофії обумовлюють переважання деструктивних процесів в клітинах, особливо у старих тварин.

Таким чином, проведені нами дослідження дозволили встановити, що кардіотоксичний вплив адреналіну спричиняє дистрофічні та некротичні зміни гепатоцитів. Найбільш виражений прояв цих змін спостерігається на 3 добу після введення кардіотоксичної дози адреналіну. Тварини з вираженими старечими змінами менш резистентні до впливу кардіотоксичної дії адреналіну. На 7 добу після введення кардіотоксичної дози адреналіну в загальноморфологічних проявах ураження печінки переважають компенсаторно-приспосувальні процеси, також спостерігається фіброз перипортальних трактів і капіляризація синусоїдів, що закріплює прояви гіпоксії.

## **ВИСНОВКИ**

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукового завдання, що знайшло своє відображення у встановленні вікових особливостей морфофункціональних та біохімічних змін у печінці за дії адреналіну у кардіотоксичній дозі. Це наукове завдання вирішене шляхом експериментального вивчення активності вільнорадикальних процесів, стану антиоксидантної системи, мембранних структур гепатоцитів, особливостей імунного гомеостазу,

вираженості ендогенної інтоксикації та морфологічних змін у печінці дорослих і старих тварин за дії адреналіну у кардіотоксичній дозі.

1. У старих щурів, порівняно з дорослими, введення адреналіну у кардіотоксичній дозі призводить до більшої активації вільнорадикального окиснення ліпідів у печінці та крові, про що свідчить зростання вмісту ТБК-активних продуктів на 57 % і гідропероксидів ліпідів – на 47 %, а також зміни активності ферментної та неферментної ланок антиоксидної системи (гальмування активності супероксиддисмутази і каталази, зниження рівня SH-груп у печінці, підвищення вмісту церулоплазміну з фазними змінами активності каталази і рівня SH-груп у крові). Прояви дії адреналіну найбільш помітні на першу і третю доби експерименту.

2. За дії адреналіну у кардіотоксичній дозі значно зростає активність маркерних ферментів цитолізу у сироватці крові (аспартатамінотрансферази – в 1,92 раза у дорослих та в 2,56 раза у старих тварин, аланінамінотрансферази – в 1,24 та 1,55 раза відповідно). Найбільших змін вони зазнають у тварин старшої вікової групи на першу і третю доби експерименту.

3. Адреналінове ушкодження міокарда супроводжується суттєвими змінами імунного гомеостазу організму, більш вираженими у старих тварин: диспропорційно зростає вміст основних класів імуноглобулінів, рівень циркулюючих імунних комплексів і активність комплементу при одночасному зниженні фагоцитарної активності лейкоцитів. Стійке підвищення рівня циркулюючих імунних комплексів, високі значення сироваткових імуноглобулінів основних класів та глибока депресія фагоцитарної системи у старих щурів вказують на значно тривалішу реституцію імунологічних параметрів до 14-ї доби адреналінової міокардіодистрофії.

4. Дія адреналіну в кардіотоксичній дозі викликає розвиток ендогенної інтоксикації, на що вказує зростання концентрації молекул середньої маси і сорбційної здатності еритроцитів, особливо у старих тварин на першу і третю доби адреналінового ушкодження міокарда.

5. Адреналін в кардіотоксичній дозі спричиняє дистрофічні та некротичні зміни гепатоцитів, найбільш виражений прояв яких спостерігається у старих тварин на третю добу після введення адреналіну. З сьомої доби починають переважати компенсаторно-приспосувальні процеси, а також спостерігається фіброз перипортальних трактів і капіляризація синусоїдів як наслідок гіпоксії.

6. Більша вираженість порушень про- та антиоксидних процесів, функціонального стану мембран гепатоцитів, імунного гомеостазу, вищий рівень маркерів ендогенної інтоксикації в старих тварин знижують функціональні та адаптивні можливості організму за умов сильного адренергічного впливу і є одними з факторів, що визначають гепатотоксичність адреналіну у тварин даної вікової групи.

7. Гетерогенність метаболічних, альтеративних і компенсаторно-приспосувальних процесів у печінці, зумовлених кардіотоксичною дозою адреналіну, а також вищий ступінь вираженості їх у старих тварин є свідченням того, що на розвиток даного патологічного процесу суттєво впливає

віковий чинник.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ НАУКОВИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Мисула І. Р. Вплив кардіотоксичної дози адреналіну на функціональний стан печінки дорослих і старих щурів / І. Р. Мисула, М. Р. Хара, М. П. Перепелиця // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2006. – № 2. – С. 84-86. (Здобувач самостійно провів експериментальні дослідження, опрацював та описав одержані результати, підготував статтю до друку).
2. Перепелиця М. П. Особливості імунних і метаболічних зрушень у дорослих і старих щурів за розвитку адренергічного ушкодження печінки / М. П. Перепелиця, І. Р. Мисула // Вісник наукових досліджень. – 2007. – №1 (46). – С. 105-108. (Здобувач самостійно провів експериментальні дослідження, опрацював та описав одержані результати, підготував статтю до друку).
3. Перепелиця М. П. Динаміка гістоструктурних змін печінки у щурів різного віку при адреналіновій міокардіодистрофії / М. П. Перепелиця, І. Р. Мисула, В.Д. Волошин // Вісник морфології. – 2008. – №14 (1). – С. 222-224. (Здобувач самостійно провів експериментальні дослідження, опрацював та описав одержані результати, підготував статтю до друку).
4. Перепелиця М. П. Активність процесів ліпідної пероксидації та стан антиоксидантного захисту у печінці дорослих і старих щурів з адреналіновим ушкодженням міокарда / М. П. Перепелиця, І. Р. Мисула // Проблеми та перспективи методичних підходів до аналізу стана здоров'я : III Міжнародна наук.-практ. конференція 26-27 березня 2009 р. : тези доп. – Луганськ, 2009. – С. 65-66. (Здобувач самостійно провів експериментальні дослідження, опрацював та описав одержані результати, підготував статтю до друку).
5. Перепелиця М. П. Вікові особливості морфологічних змін печінки дорослих і старих щурів за розвитку адреналінового ушкодження міокарда / М.П. Перепелиця // Довкілля і здоров'я : Всеукраїнська наук.-практ. конференція 24-25 квітня 2009 р. : матеріали конф. – Тернопіль, 2009. – С. 86-87. (Здобувач самостійно провів експериментальні дослідження, опрацював та описав одержані результати, підготував статтю до друку).
6. Перепелиця М. П. Стан імунологічної реактивності, фагоцитозу та ендогенної інтоксикації у тварин різних вікових груп за адреналінового ушкодження міокарда / М. П. Перепелиця, І. Р. Мисула // Гастроентерологія для лікарів-інтерністів : теоретичні та прикладні аспекти : науково-практична конференція, 29-30 квітня 2009 р. : матеріали конф. – Донецьк, 2009. – С. 57. (Здобувач самостійно провів експериментальні дослідження, опрацював та описав одержані результати, підготував статтю до друку).

## АНОТАЦІЯ

**Перепелиця М.П. Роль метаболічних, мембранних та імунних порушень в механізмах ушкодження печінки дорослих і старих щурів за адреналінової міокардіопатії. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Державний вищий навчальний заклад «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського» МОЗ України, Тернопіль, 2010.

В дисертаційній роботі представлено результати дослідження вікових особливостей метаболічних, мембранних та імунних порушень в патогенезі ураження печінки у тварин з адреналіновим ушкодженням міокарда.

Встановлено, що вік суттєво впливає на ступінь метаболічних і морфологічних уражень гепатоцитів при дії кардіотоксичної дози адреналіну. Показано, що для старих тварин притаманний високий рівень пероксидації ліпідів при низькій активності антиоксидантної системи. За адреналінового ушкодження міокарда відбувається активація вільнорадикального окиснення ліпідів в печінці та крові експериментальних тварин, що виявляється у зростанні вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів та зміні активності ферментативної та неферментативної ланок антиоксидної системи. За дії адреналіну у кардіотоксичній дозі значно зростає активність маркерних ферментів цитолізу у сироватці крові дорослих і старих щурів. Доведено, що адреналінове ушкодження міокарда супроводжується суттєвими змінами імунного гомеостазу організму. Ці порушення більш виражені у старих тварин. Показано, що за дії адреналіну в кардіотоксичній дозі відбувається посилення ендогенної інтоксикації. Маркери ендогенного токсичного синдрому наростали інтенсивніше в крові старих тварин і в перші доби адреналінової міокардіодистрофії та не поверталися до норми до кінця періоду спостереження. За допомогою гістологічного, морфометричного, електронно-мікроскопічного методів вперше встановлено більш виражений пошкоджувальний вплив адреналіну у кардіотоксичній дозі на мембранні структури гепатоцитів старих тварин.

**Ключові слова:** адреналінове ушкодження міокарда, метаболічні процеси, стан імунної системи, морфологічні особливості, вікові аспекти.

## АНОТАЦІЯ

**Перепелиця М.П. Роль метаболіческих, мембранных и иммунных нарушений в механизмах повреждения печени взрослых и старых крыс при адреналиновой миокардиопатии. – Рукопись.**

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Государственное высшее учебное заведение «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского» МЗ Украины, Тернополь, 2010.

В диссертационной работе представлены результаты исследования возрастных особенностей метаболических, мембранных и иммунных нарушений в патогенезе поражения печени у животных с адреналиновым повреждением миокарда.

Объект исследования: возрастные особенности метаболических, иммунных процессов и морфологические изменения у печени крыс при условии адреналинового повреждения миокарда.

Предмет исследования: активность процессов липидной пероксидации, состояние антиоксидантной системы, особенности клеточного и гуморального звеньев иммунитета, уровень эндогенной интоксикации, морфологические изменения печени животных при воздействии кардиотоксической дозы адреналина.

Эксперименты проведены на 229 белых нелинейных крысах-самцах, которые содержались в обычных условиях на стандартном рационе вивария. Каждая экспериментальная группа насчитывала 6-10 животных. Адреналиновое повреждение миокарда моделировали путем однократного внутривентрального введения 0,18 % раствора адреналина гидротартрата («Дарница», Украина) из расчета 0,5 мг/кг массы тела.

Эксперименты проводили на крысах таких возрастных периодов: взрослые (8-10 месячные, масса 180-220 г) та старые (18-24 месячные, массой 300 г и более). Было проведено три серии исследований. У крыс с первой серии эксперимента забирали кровь для определения показателей гуморального иммунитета, фагоцитоза та эндогенной интоксикации, а также печень для гистологического исследования. Следующую серию исследований проводили с биологическим материалом – печень и кровь подвергали биохимическому исследованию для определения показателей пероксидного окисления липидов, антиоксидантной системы, активность энергообеспечивающих ферментов та аминотрансфераз. Декапитация в условиях тиопентал-натриевого обезболивания производилась через 1, 3 (период развития максимальных нарушений), 7 та 14 (период уменьшения повреждений, отдаленные сроки) сутки после инъекции адреналина. Субстратами исследований были плазма крови, сыворотка крови, цельная кровь, гомогенат печени та печень животных.

Интенсивность процессов липидной пероксидации оценивали за концентрацией гидропероксидов липидов (ГПЛ) и ТБК-активных продуктов; состояние антиоксидантной системы – за активностью супероксиддисмутазы, каталазы, содержанием церулоплазмину та SH-групп; состояние плазматических мембран гепатоцитов оценивали за активностью аланин- та аспаратаминотрансфераз в сыворотке крови; показатели гуморального иммунитета оценивали за

содержанием иммуноглобулинов А, М, G, циркулирующих иммунных комплексов, клеточного – за показателями фагоцитарной активности лейкоцитов; уровень эндогенной интоксикации оценивали за содержанием молекул средней массы та степень сорбционной возможности эритроцитов; структурные изменения оценивали при помощи морфологических та электронно-микроскопических методов. Полученные цифровые результаты обрабатывали методами вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента (Гублер Е.В., 1978).

Установлено, что возраст существенно влияет на степень метаболических и морфологических нарушений гепатоцитов при действии кардиотоксической дозы адреналина. Показано, что для старых животных присущий высокий уровень пероксидации липидов при низкой активности антиоксидантной системы. При адреналиновом поражении миокарда происходит активация свободнорадикального окисления липидов в печени и крови экспериментальных животных, что проявляется в увеличении содержания продуктов пероксидного окисления липидов (ТБК-активных продуктов, гидроперекисей липидов) и изменении активности ферментативного и неферментативного звеньев антиоксидантной системы (снижается активность супероксиддисмутазы, каталазы, уровень SH-групп в печени и повышается содержание церулоплазмينا с фазными изменениями активности каталазы и уровня SH-групп в крови). При действии адреналина в кардиотоксической дозе значительно повышается активность маркерных ферментов цитолиза (АлАТ, АсАТ) в сыворотке крови взрослых и старых крыс. Проявления действия адреналина в кардиотоксической дозе более выражены в первые сутки эксперимента и у старых животных. Доказано, что адреналиновое повреждение миокарда сопровождается существенными изменениями иммунного гомеостаза организма – диспропорционально растет содержание основных классов иммуноглобулинов, уровень циркулирующих иммунных комплексов, активность комплемента, и снижается фагоцитарная активность лейкоцитов. Эти нарушения более выражены у старых животных. Показано, что при действии адреналина в кардиотоксической дозе происходит усиление эндогенной интоксикации. Маркеры эндогенного токсического синдрома (молекулы средней массы, сорбционная способность эритроцитов) нарастают интенсивнее в крови старых животных и в первые сутки адреналиновой миокардиодистрофии не возвращаясь к норме до конца периода наблюдения. Обнаружены возрастные особенности гуморального иммунитета и фагоцитоза, повышенный уровень маркеров эндогенной интоксикации у интактных животных старшей возрастной группы являются одними из факторов, которые определяют кардиотоксичность адреналина. С помощью гистологического, морфометрического, электронно-микроскопического методов впервые установлено более выраженное повреждающее влияние кардиотоксической дозы адреналина на мембранные структуры гепатоцитов старых животных.

**Ключевые слова:** адреналиновое повреждение миокарда, метаболические процессы, состояние иммунной системы, морфологические особенности, возрастные аспекты.

## SUMMARY

**Perepelyts'a M.P. The role of metabolic, membrane and immune violations in the mechanisms of liver damages in grown-up and old rats with adrenaline myocardiopathy. – Manuscript.**

The thesis for the Candidate degree of of Medical Sciences in speciality 14.03.04 – pathological physiology. – The State Higher Educational Establishment “I.Y. Horbachevsky Ternopil State Medical University” MH of Ukraine, Ternopil, 2010.

The results of research of age peculiarities of metabolic, membrane and immune violations in pathogenesis of liver affection of animals with adrenalin damage of myocardium are presented in the dissertation.

It was established that the age significantly influences the degree of metabolic and morphological lesion of hepatocytes under the action of adrenaline cardiotoxic dose. It was shown that old animals are inclined to have high level of lipids peroxidation at low activity of antioxidant system. As a result of adrenaline damage of myocardium the activation of free-radical lipids oxidation in liver and blood of animals under experiment was observed. The results showed the increase in the amount of products of lipid peroxidation and the change in enzymic and nonenzymic activity of antioxidant system links.

Under the action of adrenaline in cardiotoxic dose the activity of marker enzymes of cytolysis increases considerably in the blood serum of grown-up and old rats. It is proved that adrenaline violation of myocardium is accompanied by essential changes in immune homeostasis of the organism.

These violations are more frequently observed in old animals. It is shown that the aggravation of endogenous intoxication occurs under the action of adrenaline in cardiotoxic dose. The markers of endogenous toxic syndrome grew more intensively in the blood of old animals and during the first days of adrenaline myocardical dystrophy and remained unchanged till the end of the observation. More noticeable damaging effect of adrenaline in cardiotoxic dose on membrane structure of hepacytes of old animals was established for the first time by using histological, morphological and electronic-microscopic methods.

**Key words:** adrenaline violation of myocardium, metabolic processes, immunity system state, morphologic peculiarities, age aspects.