

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ УКРАЇНИ  
СІМФЕРОПОЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ім. М.В.ФРУНЗЕ

*На правах рукопису*

**ПИЛИПЧЕНКО Валентина Іванівна**

**ПЕРЕКИСНЕ ОКИСЛЕННЯ,  
АНТИОКСИДАНТНИЙ ЗАХИСТ  
І МІТОТИЧНИЙ РЕЖИМ КЛІТИН ПЕЧІНКИ  
ПРИ ДІЇ ЛАЗЕРНОГО І ГАММА-ОПРОМІНЕННЯ  
НА ОРГАНІЗМ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН**

**03.00.13 — Фізіологія людини і тварин**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
дисертації на здобуття вченого ступеня  
кандидата біологічних наук

**СІМФЕРОПОЛЬ — 1996**

59/1  
612



00760817 (Т)

Дисертацією є рукопис  
Робота виконана в Українській медичній стоматологічній академії  
/м.Полтава / (ректор - Заслужений діяч науки і техніки України,  
доктор медичних наук, професор М.С.Скрипніков)

Наукові керівники - заслужений діяч науки і техніки України, професор,  
доктор медичних наук, **Мищенко Віталій Петрович**  
кандидат біологічних наук, доцент  
**Цебржинський Олег Ігорович**

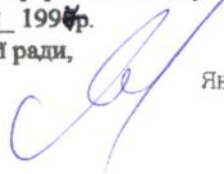
Науковий консультант- доктор медичних наук, професор  
**Гасюк Анатолій Петрович**

Офіційні опоненти - доктор біологічних наук, професор  
**Русєв Валентин Федорович**  
кандидат біологічних наук, доцент  
**Мартинюк Віктор Семенович**

Провідна організація - **Харківський медичний університет**

Захист відбудеться "**6**" лютого 199**8** року о **14<sup>00</sup>** годині на  
засіданні спеціалізованої вченої ради К.20.02.02 при Сімферопольському  
державному університеті ім.М.В.Фрунзе (333036, Крим, Сімферополь,  
вул.Ялгинська,4).

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Сімферопольського  
державного університету ім.М.В.Фрунзе (м.Сімферополь -36, вул.Ялгинська,4).  
Автореферат розісланий "**3**" січня 199**8**р.  
Вчений секретар спеціалізованої вченої ради,  
кандидат біологічних наук, доц.

  
Янцев О.В.

48-36.044

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Останніми роками питанням впливу  $\gamma$ - і лазерного опромінення на організм людини приділяється багато уваги. Аварія на ЧАЕС, внаслідок якої населення і тваринництво України та інших країн стало об'єктом впливу радіаційного випромінювання (Гаврилюк І.Ю., 1993; Москалев Ю.І., 1991; Царегородцев А.Д., 1996), а широке застосування лазерної терапії поставило завдання комплексного вивчення (фізіологічного, цитогенетичного, біохімічного, гістологічного) реакції системи органів на ці впливи. Дія  $\gamma$ - і лазерного випромінювання різна (Барабой В.А., Хмелевський Ю.В., 1994; Корытний Д.А., 1979; Кошелев В.Н. і соавт., 1980; Крюк А.С. і соавт., 1986; Скобелкіна О.К., 1989). Найчастіше використовується  $\gamma$ -опромінення ( $\lambda < 0,1$  нм) і випромінювання гелій-неонового лазера ( $\lambda = 632,8$  нм), які мають принципові відмінності у механізмах дії (Крюк А.С. і соавт., 1986; Барабой В.Н. і соавт., 1994). Лазерне випромінювання дає теплову енергію, поглинається хромоформними утвореннями каталази і церулоплазміну, ДНК-фотоліазою, сприяє перетворенню молекулярного кисню у синглетний (Байбеков І.М. і соавт., 1991; Зубкова С.М., 1978; Самойлов Н.Г., 1990). Гамма-опромінення за енергією співвимірне з енергією зв'язку в молекулах: сприяє радикальному розриву біополімерів (ліпідів, нуклеїнових кислот, білків, полісахаридів), радіолізу води, при якому утворюється гідроксилрадикал (Барабой В.А. і соавт., 1991; Бурлакова Е.Б., 1975; Москалев Ю.І., 1991; Тимофеев-Ресовский Н.В. і соавт., 1981). Гідроксилрадикал і синглетний кисень є ініціаторами вільнорадикального перекисного окислення біополімерів, які при надмірному посиленні стають основою вільнорадикальної патології (Абрамова Ж.І., 1985; Еоскресенский О.Н., 1981; Серединин С.Б., Дурнев А.Д., 1992; Цебржинский О.І., 1992).

При екстракорпоральному  $\gamma$ -опроміненні найбільше страждає система крові (гемопоез), значно стійкішою виявляється тканина печінки (Москалев Ю.І., 1991; Ярмоненко С.П., 1977, 1996).

Проте, незважаючи на значну кількість праць у світовій літературі, присвячених впливу  $\gamma$ - і лазерного опромінення на процеси пероксидації та антиоксидантного захисту, залишається не з'ясованою проблема впливу різних доз цих видів опромінення на стан не тільки вільнорадикального окислення в крові та тканинах печінки, але й на регуляцію цитофізіологічної властивості тканини печінки.

Більш досліджені патології ліпідів у пухлинах (Алов І.А., 1972; Альбертс Б. і соавт., 1986; Казанцева І.А., 1981); ультраструктура кісткового мозку при радіації (Авцын І.А., 1979). Мало вивченою залишається зміна структури печінки при дії лазерного і  $\gamma$ -опромінення, зміна мітотичного режиму клітин печінки, математичне з'ясування провідних інформаційних показників цих процесів.

ЛІНБ ім. В. Стефаніва

Мета і завдання роботи. На підставі вищесказаного була поставлена

відповідна мета - дослідити зміни стану вільнорадикального перекисного окислення біополімерів і антиоксидантного захисту у порівнянні зі змінами цитофізіологічної структури клітин печінки та їх мітотичного режиму при нелетальних дозах  $\gamma$ - або лазерного опромінення у кратному співвідношенні.

Відповідно до мети були поставлені такі завдання дослідження:

1. Дослідити стан перекисного окислення у крові та тканинах печінки і ультраструктуру клітин печінки та їх мітотичний режим при різних дозах  $\gamma$ -опромінення.

2. Дослідити стан перекисного окислення у крові та тканинах печінки, ультраструктуру гепатоцитів при різних дозах лазерного опромінення.

3. Промоделювати у математичній формі провідні параметри інформативності антиоксидантного статусу, які підтверджують стан перекисного окислення у крові та тканинах печінки, цитофізіологію і ультраструктуру гепатоцитів при різних дозах лазерного і  $\gamma$ -опромінення.

**Наукова новизна роботи.** Вперше встановлено, що дія на організм різних доз лазерного і  $\gamma$ -опромінення через процеси локального посилення пероксидації або модифікації рівня антиоксидантного захисту впливає на цитофізіологічні особливості печінкової дольки, модифікації мітотичного режиму. В результаті виведена математична закономірність, яка визначає інформативність показників, що характеризують ПОЛ і АОЗ, стан клітин печінки при дії лазерного і  $\gamma$ -опромінення.

Вперше устновлено, що печінка - досить чутливий орган до впливу різних видів електромагнітного випромінювання у плані модифікації життєвого циклу гепатоцитів.

**Теоретичне значення роботи.** Намічені перспективи для взаємозв'язку змін прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу із змінами ультраструктури гепатоцитів і цитофізіологічними порушеннями мітотичного режиму.

**Практичне значення роботи.** Внаслідок проведеного дослідження встановлено, що досліджувані дози лазерного і  $\gamma$ -опромінення (зокрема і ті, що певною мірою відрізняються від фонового значення), через процеси зміни антиоксидантного статусу впливають на репарацію тканин печінки. Це повинно враховуватись у клінічній практиці при використанні вказаних видів опромінення у хворих з порушеннями функцій печінки.

**Впровадження** наукових розробок у практику. Теоретичні положення і результати даної роботи використовуються під час читання лекцій і проведення практичних занять на кафедрах загальної гігієни, патологічної анатомії, у дослідженнях Центральної науково-дослідної лабораторії Тернопільського державного медичного інституту, на кафедрах нормальної фізіології і медичної біології, паразитології і генетики Української медичної стоматологічної академії (УМСА) м.Полтави, на кафедрі біології Полтавського державного педагогічного інституту ім.В.Г.Короленка.

**Публікації і апробація** результатів дослідження. За темою дисертації опубліковано 10 наукових робіт, наявні 5 раціоналізаторських пропозицій. Ос-

новні положення дисертації доповідалися і обговорювалися на підсумкових науково-практичних конференціях:

- обласній науково-практичній конференції "Науково-технічний прогрес, здоров'я сільського населення, прикладні та фундаментальні проблеми медицини і біології" (Полтава, 1989);
- III Всесоюзній конференції "Біоантиоксидант" (Москва, 1989);
- Української медичної стоматологічної академії (1990, 1991, 1996);
- XIV з'їзду Українського фізіологічного товариства ім.Павлова (Київ, 1994);
- I міжнародному конгресі з інтегральної антропології (Тернопіль, 1995);
- Міжнародній конференції "Актуальні питання морфології" (Тернопіль, 1996).

**Об'єм і структура дисертації.** Дисертація викладена на 143 сторінках друкованого тексту і складається із вступу, аналітичного огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 3-х розділів власних досліджень, обговорення, висновків, практичних рекомендацій і списку використаної літератури з 173 джерел, зокрема 128 вітчизняних і 45 іноземних.

Фактичні дані задокументовані 20 таблицями, 12 фотографіями, ілюстровані 27 малюнками.

Робота є фрагментом комплексної теми "Цитогенетичні особливості пухлин і тканин при інтоксикації та опроміненні" (0193V0240033).

**Декларація особистої участі автора** у розробці основних положень дисертації. Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням. Лазерне опромінення щурів проведене на матеріальній базі кафедри гістології УМСА (м.Полтава),  $\gamma$ -опромінення - на базі Полтавського обласного онкологічного диспансера. Дози і час опромінення розраховані самостійно. Розробка програми досліджень, проведення аналізів крові і тканин органів за параметрами перекисного окислення, антиоксидантного захисту і мікроскопія тканин печінки проведені автором самостійно на матеріальній базі (прилади і реактиви) ЦНДЛ і кафедри патологічної анатомії УМСА (м.Полтава) і ЦНДЛ Тернопільського державного медичного інституту. Статистична обробка результатів дослідження, аналіз та інтерпретація їх виконані автором самостійно. Математичне моделювання інформативності параметрів проведене на комп'ютері IBM-386 на базі кафедри біофізики УМСА (м.Полтава).

**Основні положення дисертації, які вносяться на захист.**

1. При мінімальній дозі гелій-неонового лазерного випромінювання у  $1\text{ мВт/см}^2$  змінюється антиоксидантно-прооксидантний потенціал у крові і тканинах печінки. При дозі опромінення гелій-неоновим лазером у  $20\text{ мВт/см}^2$  зрушення антиоксидантно-прооксидантного потенціалу пов'язані зі зміною ультраструктури печінкової дольки і патологією мітотичного режиму гепатоцитів.

2. При дозі  $\gamma$ -опромінення  $0,25\text{ Гр}$  відбуваються зміни перекисного окислення у крові і тканинах печінки, а при дозі  $2,5\text{ Гр}$  спостерігаються зміни пере-

кисного окислення ліпідів (ПОЛ) у тканинах, при цьому порушення мітотичного режиму і ультраструктури гепатоцитів більш виражені.

3. Математично доведений взаємозв'язок між дозами опромінення та інформативністю параметрів, що характеризують стан ПОЛ і антиоксидантного захисту (АОЗ) у порівнянні з цитофізіологією і ультраструктурою гепатоцитів та їх мітотичним ритмом.

#### Особливості методичного підходу

**Об'єкт і методи дослідження.** Для вирішення поставлених завдань експеримент проведений на білих щурах-самцях лінії Вістар, які мали стійку гіпоталамо-гіпофізарно-надниркову систему, що могло послаблювати стресовий елемент впливів. Усі тварини були поділені на п'ять груп. Перша група - інтактні тварини (контрольна група) і чотири групи - експериментальні. Дві групи піддавалися щоденно протягом 10 днів лазерному опроміненню на епігастральну ділянку в дозах  $1 \text{ мВт/см}^2$  або  $20 \text{ мВт/см}^2$  по 10 хвилин за день. Дві інші експериментальні групи тварин піддавали екстракорпоральному, одноразовому  $\gamma$ -опроміненню у дозах 0,25 Гр або 2,5 Гр. Дози визначали таким чином: доза опромінення в  $1 \text{ мВт/см}^2$  гелій-неоновим лазером (ГНЛ) вкрай мала, проте для малих доз становить одну з недостатньо вивчених проблем сучасної фізіології. Дозу  $20 \text{ мВт/см}^2$  відносять до середніх доз, які часто використовують у терапії (Самойлов Н.Г., 1990). Для цих доз показана стимуляція синтезу нуклеїнових кислот, збільшення мітотичної активності у тканинах печінки (Крюк А.С., 1994). Доза  $\gamma$ -опромінення в 0,25 Гр більша фонового значення і близька до лікувальної дози опромінення - за літературними даними мало впливає на стан вільнорадикального окислення (ВРО) і АОЗ (Барабой В.А., Хмельський Ю.В., 1994). Доза 2,5 Гр для щурів близька до  $1/3 \text{ ЛД}_{50}$ . Лазерне опромінення проводили гелій-неоновим лазером ГНЛ-75, а  $\gamma$ -опромінення - кобальтовою гарматою "Агат-2".

Тварини утримувалися на стандартному раціоні виварію, експеримент проводили під час весняно-літнього періоду. Евтаназію тварин проводили під гексеналовим наркозом шляхом забору крові із серця. Загибелі тварин під час експерименту не спостерігали. Годування тварин припиняли за добу до забою, який проводили на 5-у добу після одноразового  $\gamma$ -опромінення і на 10-у - після лазерного опромінення. При цьому враховувалося, що механізм дії лазерного опромінення пов'язаний з тепловим ефектом і поглинанням кванта світла хромоформними угрупованнями, з переходом електронів на більш віддалений від ядра рівень, а дія  $\gamma$ -опромінення пов'язана з розривом хімічних зв'язків у біополімерах і радіолізом води. Таким чином, у вказані терміни більшою мірою переважають адаптаційно-компенсаторні, а не деструктивні процеси, безпосередньо пов'язані із впливом.

**Методи.** У крові, тканинах печінки, нирок, серця і мозку визначали концентрацію малонового діальдегіду (МДА) до і після 1,5 годинної інкубації у прооксидантному буферному розчині (Владиміров Ю.А., Арчаков А.И., 1972) і активність супероксиддисмутази (СОД) (Брусов О.С. и соавт., 1976); визначали

концентрацію дієвих кон'югатів у сироватці крові (Воскресенский О.Н., 1982); максимальну і сумарну індуковану хемлюмінесценцію сироватки крові (Журавлев А.И., Журавлева А.И., 1975); перекишний гемоліз еритроцитів (Goger E., 1968); активність каталази крові (Архипова О.В., 1968); концентрацію холестерину в сироватці крові (Меньшиков В.В., 1988) і церулоплазміну (Колб В.Г., Камышников В.С., 1982).

Гістологічні зрізи печінки для світлової мікроскопії забарвлювали гематоксилін-еозіном, пікрофуксіном за Ван-Гізон, ШИК-реакції з альціановим синім (за Брегманом); ДНК і РНК (за Браше); готували препарат для електронної мікроскопії. Особливості мітотичного режиму вивчали за фотографіями зрізів з урахуванням об'єктів цитогенетичних структур (Гасюк А.П., Сидоренко И.И., 1995).

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою мікрокомп'ютера Citizen SR-35m. Результати порівнювали за критерієм Ст'юдента; за достовірні зміни значень приймали при  $p < 0,05$  і нижче; при  $p < 0,1$  відмічали тенденцію до достовірності. Дані експерименту аналізували, використовуючи метод  $\Sigma$ П-апроксимації (Курчанов В.Н., Ланне А.А., 1985) для виявлення найбільш інформативних показників.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

### 1. Особливості дії $\gamma$ -опромінення в експерименті.

Внаслідок екстракорпорального  $\gamma$ -опромінення у дозі 0,25 Гр виявлені такі зміни фізіологічного антиоксидантного статусу крові і тканин (таблиця 1).

Виявлена деяка тенденція посилення перекисного гемолізу еритроцитів. Зате початкова концентрація МДА виявилася достовірно зниженою на 40%. При цьому на 50% виріс рівень МДА після інкубації і більше ніж у 2 рази зріс приріст МДА за час інкубації відносно норми. Згідно з літературними даними подібні дози опромінення не змінюють рівень МДА у крові (Барабой В.А., Хмельський Ю.В., 1994). Наші дані вказують на таку мобілізацію антиоксидантного захисту, яка латентно близька до її вичерпання. Про це свідчить зниження початкового рівня МДА і підвищення кінцевого після інкубації.

При дії  $\gamma$ -опромінення у дозі 0,25 Гр достовірно підвищувалася інтенсивність індукованої хемлюмінесценції, як максимальної ( $p < 0,002$ ), так і сумарної ( $p < 0,001$ ). Очевидно, це відбувається внаслідок перерозподілу антиоксидантів з крові у тканини.

Активність супероксиддисмутази (СОД) крові і вміст церулоплазміну в сироватці крові істотно не змінилися, але концентрація холестерину в сироватці знизилася у 1,5 рази, активність каталази крові зменшилась на 30% порівняно з нормою. У тканинах печінки початковий рівень МДА достовірно не змінився. Але істотно знизилась (у 1,9 рази) концентрація МДА після інкубації ( $p < 0,002$ ) і приріст МДА за час інкубації зріс у 6,6 рази. При цьому активність СОД у тканинах печінки збільшилась ( $p < 0,01$ ) (малюнок 1). Це свідчить про напруженість антиоксидантного захисту у тканинах печінки у від -



Малюнок 1. Концентрація МДА і СОД у тканинах печінки щурів після  $\gamma$ -опромінення

Таблиця 1.

Стан ВРПО і АОЗ крові після дії на щурів різних доз  $\gamma$ -опромінення

Показник	Норма	$\gamma$ -опромінення	
		0,25 Гр	2,5 Гр
Концентрація МДА до інкубації, мкмоль/л	12,8±0,54	7,2±1,12 (p<0,002)	9,8±0,36 (p<0,001)
Концентрація МДА після 1,5 год інкубації, мкмоль/л	29,2±1,3	44,4±4,48 (p<0,002)	22,6±2,2 (p<0,02)
Приріст МДА за 1,5 год інкубації, мкмоль/л	15,5±0,55	37,2±2,85 (p<0,002)	12,8±1,25 (p<0,02)
Індукована хемілюмінесценція: максимальна, імп.	4853±490	5402±62 (p<0,02)	4312±160 (p<0,01)
Індукована хемілюмінесценція: сумарна, імп/60 сек.	53631±1378	70310±575 (p<0,001)	52834±1158
Перекисна резистентність еритроцитів, % гемолізу	5,2±0,36	6,2±0,47 (p<0,1)	5,9±0,60
Активність каталази, од.	1,7±0,03	1,1±0,05 (p<0,1)	1,9±0,08
Активність супероксиддисмутази, од.	1,98±0,54	1,53±0,14	1,39±0,17
Концентрація церулоплазміну, мг/л	268±10,5	244±21,0	165±4,7 (p<0,001)
Концентрація холестерину, мкмоль/л	1,27±0,03	0,85±0,13 (p<0,01)	1,48±0,07 (p<0,01)

повідь на дію випромінювання, яке через радіоліз генерувало активні форми кисню.

У тканинах нирок знижувався вміст МДА до [з  $41,7 \pm 9,17$  до  $25,5 \pm 0,86$  ( $p < 0,002$ ) мкмоль/кг] і після інкубації [з  $56,5 \pm 9,73$  до  $28,0 \pm 0,99$  ( $p < 0,01$ ) мкмоль/кг] і його приріст за час інкубації становив усього 0,9%. Активність СОД зроста з  $3,44 \pm 1,13$  до  $6,43 \pm 0,367$  умовн. од ( $p < 0,05$ ).

У тканинах мозку внаслідок опромінення знизився рівень МДА після інкубації і приріст МДА за час інкубації став у 3,0 раза менше. Активність СОД зростала у 1,5. У тканинах серця зріс початковий рівень МДА, але знизився його приріст за час інкубації, при цьому зроста активність СОД.

Зменшення концентрації МДА у тканинах після інкубації, очевидно, пояснюється тим, що у тканинах печінки, нирок і мозку зростає активність СОД.

Останнє може відображати ріст продукції супероксиданіонрадикалу. Проте в крові цей процес блокується, очевидно, в першу чергу низькомолекулярними антиоксидантами.

Внаслідок екстракорпорального  $\gamma$ -опромінення дозою 2,5 Гр виявлені такі зміни фізіологічного антиоксидантного статусу крові і тканин (Таблиця 1).

Рівень перекисного гемолізу еритроцитів і концентрація дієнових кон'югатів істотно не змінилися, але вміст МДА до і після інкубації, а також його приріст за час інкубації став достовірно нижчим норми (на 23%), що може відображати мобілізацію захисних сил організму на наслідки стресового ефекту опромінення.

При  $\gamma$ -опроміненні дозою 2,5 Гр достовірно збільшилася максимальна інтенсивність хемілюмінесценції сироватки крові в умовах індукції ( $p < 0,01$ ), але сумарна інтенсивність істотно не змінилася. Можливо, це артефакт, зумовлений хаотичним розподілом або відображаючим вихід окремих молекул перекисів із тканин у кров.

Істотних змін активності у крові каталази і СОД не виявлено, але вміст церулоплазміну в сироватці крові знизився ( $p < 0,01$ ) на 40% і, очевидно, відображає порушення білоксинтезуючої функції печінки.

При порівнянні ефектів дії на шурів одноразових опромінь дозою 0,25Гр, 2,5 Гр у крові не виявлялися відмінності у рівні перекисного окислення еритроцитів і активності СОД. Проте на 60% зростала активність каталази ( $1,14 \pm 0,54$  од. при 0,25 Гр і  $1,86 \pm 0,761$  од. при 2,5 Гр,  $p < 0,001$ ). При цьому трохи зростала початкова концентрація у крові МДА ( $7,24 \pm 1,206$  мкмоль/л при 0,25 Гр проти  $9,84 \pm 0,36$  мкмоль/л при 2,5 Гр,  $p < 0,1$ ). Концентрація МДА після інкубації виявлялася меншою при більшій дозі опромінення ( $44,4 \pm 4,48$  мкмоль/л при 0,25Гр і  $22,6 \pm 2,14$  мкмоль/л при 2,5 Гр,  $p < 0,002$ ). Приріст МДА за час інкубації також зменшувався у 3 рази ( $p < 0,002$ ) при дії великої дози. Концентрація церулоплазміну виявилася меншою при 2,5 Гр ( $p < 0,05$ ).

У тканинах печінки відзначалося збільшення (на 21%) початкового рівня МДА при сталості величин інших фракцій МДА і активності СОД. Оче-

видно, з одного боку, це пов'язане зі збільшенням вмісту альдегідів, а з іншого - гальмуванням білоксинтезуючої функції печінки (малюнок 1).

При порівнянні впливу двох доз одноразового опромінення щурів відносно печінки виявлене зниження втричі активності СОД при великій дозі ( $11,33 \pm 0,85$  од. при  $0,25$  Гр проти  $3,81 \pm 0,277$  од. при  $2,5$  Гр,  $p < 0,002$ ), приріст рівня усіх фракцій МДА при більшій дозі до інкубації у 3 рази ( $19,8 \pm 7,7$  мкмоль/кг при  $0,25$  Гр проти  $62,8 \pm 5,07$  мкмоль/кг при  $2,5$  Гр,  $p < 0,001$ ), після інкубації - у 3 рази ( $22,7 \pm 1,05$  мкмоль/кг при  $0,25$  Гр проти  $72,3 \pm 4,6$  мкмоль/кг при  $2,5$  Гр,  $p < 0,001$ ), і за час інкубації приріст збільшувався у 3,5 рази ( $2,25 \pm 0,142$  мкмоль/кг при  $0,25$  Гр проти  $9,5 \pm 3,32$  мкмоль/кг при  $2,5$  Гр,  $p < 0,05$ ).

У тканинах нирок відмічалось збільшення на 65% початкового рівня МДА при сталості величин інших фракцій МДА і активності СОД.

Порівняльна характеристика різних доз радіації показала, що при більшій дозі у тканинах нирок у 3,5 рази знижувалась активність СОД ( $6,4 \pm 0,37$  од. при  $0,25$  Гр проти  $1,9 \pm 0,37$  од. при  $2,5$  Гр,  $p < 0,001$ ), у 2,7 рази зростав початковий рівень МДА ( $25,5 \pm 0,86$  мкмоль/кг при  $0,25$  Гр проти  $68,8 \pm 3,68$  мкмоль/кг при  $2,5$  Гр,  $p < 0,001$ ), концентрація МДА після інкубації також збільшувалась ( $28,0 \pm 0,99$  мкмоль/кг при  $0,25$  Гр проти  $75,4 \pm 11,04$  мкмоль/кг при  $2,5$  Гр,  $p < 0,05$ ).

У тканині мозку відмічалось підвищення вмісту МДА до і після інкубації при сталості приросту МДА і активності СОД. Велика доза опромінення створювала на тканину мозку прооксидантний ефект, що впливає з абсолютних значень величин МДА до і після інкубації тканин. Порівняно з малою дозою опромінення початковий рівень МДА зріс у 2,5 рази, а концентрація МДА після інкубації збільшилася у 2,6 рази, приріст МДА за час інкубації - у 3,5 рази ( $p < 0,001$ ).

У тканинах серця виявлено порівняно з нормою підвищення початкового рівня МДА у 4 рази і вміст МДА після інкубації у 3 рази. Приріст МДА за час інкубації істотно не збільшився. Активність СОД знизилась більше, ніж у 2 рази. Звідси можна зробити висновок, що доза в  $2,5$  Гр має потужний вплив на зміну співвідношення антиоксидантно-прооксидантного гомеостазу у тканинах печінки, нирок, мозку, серця.

Проведені морфологічні та каріометричні дослідження у експериментальних тварин-щурів після малих доз  $\gamma$ -опромінення отримали таке - у центральних ділянках печінкової дольки (періцентральної зони) відмічається дискомпенсація балочкової структури за рахунок нерівномірного розширення простору Діссе. У гепатоцитах визначається виражена дистрофія у вигляді наявності у цитоплазмі базофільних брилок білка з нечіткими контурами ядер. Крім того, виявляється апоптоз (некроз окремих гепатоцитів) у вигляді гомогенної конденсації гетерохроматину ядер.

Після великих доз  $\gamma$ -опромінення у періцентральної зоні печінкових долек відмічаються більш глибокі деструктивні зміни гепатоцитів. Вони поля-

гають у явищі дифузного апоптозу гепатоцитів, а також у явищах гідропічної, балонної і жирової дистрофії. Указані зміни супроводжуються нерівномірним розширенням простору Діссе за рахунок набряку з появою в них дифузних клітинних інфільтратів, які складаються з сегментоядерних лейкоцитів та лімфоцитів. За рахунок описаних морфологічних змін відбувається повна дезорганізація балочкової структури у периферичних зонах печінкових дольок.

При електронномікроскопічному дослідженні у периферичних ділянках печінки щурів після малих доз  $\gamma$ -опромінення у гепатоцитах визначається часткове, іноді повне руйнування крист мітохондрій, місцями розширення з конденсацією і гомогенізацією каналів ендоплазматичної мережі. У цитоплазмі зустрічаються одиничні лізосоми і фагосоми, а також одиничні ліпідні включення.

Проведені морфологічні дослідження периферичних зон печінкових дольок у експериментальних тварин після  $\gamma$ -опромінення малими і великими дозами вказують на те, що порівняно з попередніми зонами патологічні зміни виражені більш слабо.

Установлено, що після малих і великих доз  $\gamma$ -радіації каріометрично крім  $IgV=3,1$ , що відповідає контрольній групі, з'являються два нові ядерні класи, відповідно  $IgV=2,6$  і  $IgV=3,5$ . Слід відзначити, що порівняно з контрольною групою нові ядерні класи не вкладаються у закон ритмічної зміни об'єму ядра (Jakobi, 1925-1936). Клас А і клас С відповідно зменшується або збільшується на 0,5 (тобто у 3,5).

Для з'ясування сутності цього патологічного процесу нами проведене вивчення патології мітозу відповідно характерних для гепатоцитів класу А і класу С.

Установлено, що для клону гепатоцитів типу А характерне переважання патології мітозу в стадіях анафази, телофази (патологіями в анафазі у вигляді мікроядер і хромосомних мостів) при малій дозі опромінення. Ці клітини частіше зустрічаються у периферичних зонах печінкових дольок. Для клону гепатоцитів типу С характерне збільшення патології метафази (К-мітоз) (злипання хромосом) і профазі (фрагментація хромосом) і загибель ядра. Причому така форма патології мітозу частіше зустрічається при великих дозах  $\gamma$ -опромінення у периферичних зонах печінкових дольок. Тому при великих дозах  $\gamma$ -опромінення клітини з порушеними хромосомами або мітогічним апаратом підлягають апоптозу, який розглядається як абортивний мітоз (Уривасва І.В. и соавт., 1996), або призводять до анеуплоїдії.

## **2. Особливості дії лазерного випромінювання в експерименті.**

Результати дослідження дії малих ( $1 \text{ мВт/см}^2$ ) доз лазерного опромінення на організм щурів представлені у таблиці 2.

Проведеними дослідженнями встановлено, що порівняно з нормою у експериментальних тварин спостерігалось збільшення на 20% гемолізу еритроцитів. Оскільки відмиті еритроцити інкубувалися у фосфатному ізотонічному буферному розчині 4 години, то слід припустити, що розпочата

вільнорадикальна ланцюгова реакція окислення поліненасичених залишків жирних кислот фосфоліпідів мембран еритроцитів продовжується в умовах інкубації і призводить до деструкції мембран з подальшим гемолізом. Таким чином, можна припустити, що малі дози лазерного опромінення стимулювали продукцію активних форм кисню.

У крові первинні продукти перекисного окислення ліпідів - дієнові кон'югати або ацилгідроперекиси істотно не змінили свої концентрації порівняно з нормою. Початковий рівень МДА істотно не змінювався. Після півторагодинної інкубації еритроцитів у прооксидантному буферному розчині (залізо-аскорбатна система генерації активних форм кисню) знизився вміст МДА на 20%. Отже, спостерігається напруженість функціонування антиоксидантного захисту. Активність каталази крові на 10 день опромінення дозою  $1 \text{ мВт/см}^2$  знизилась на 20%, хоча у деяких наукових джерелах вказується, що саме гемові структури здатні поглинати промені гелій-неонового лазера. Активність СОД мала тенденцію до зниження на 35%. Вміст церулоплазміну у сироватці крові знизився у 2,4 раза.

У тканинах печінки (мал.2) при дії малої дози гелій-неонового лазерного опромінення підвищився приріст МДА за час інкубації і активність СОД.

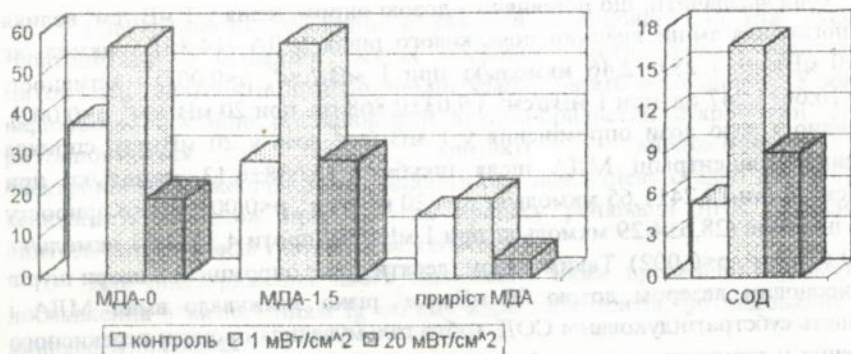
Таким чином, підвищення приросту МДА за час інкубації і активність СОД вказує на неблагополуччя у тканинах печінки, на зміну прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу.

Результати дослідження дії великих ( $20 \text{ мВт/см}^2$ ) доз лазерного опромінення представлені в таблиці 2.

Проведеними дослідженнями встановлена незначна зміна величин перекисного гемолізу еритроцитів, початкової концентрації МДА у крові. Але концентрація МДА після інкубації крові у прооксидантному буфері виявилася достовірно підвищеною на 39% порівняно з нормою. Активність каталази крові знизилась у 1,5 раза. Активність СОД практично не змінилася, як і вміст церулоплазміну і холестерину в сироватці крові.

Проте, при порівнянні дії різних доз лазерного опромінення слід відзначити більш виражене зниження активності каталази крові при дії великої дози опромінення ( $1,076 \pm 0,856$  од. при  $20 \text{ мВт/см}^2$  проти  $0,0488$  од. при  $1 \text{ мВт/см}^2$ ,  $p < 0,01$ ). Достовірно зростала активність СОД при дії великої потужності лазерного опромінення ( $1,58 \pm 0,047$  одиниць при  $20 \text{ мВт/см}^2$  проти  $1,25 \pm 0,032$  при  $1 \text{ мВт/см}^2$ ,  $p < 0,001$ ). Аналогічно збільшувався вміст церулоплазміну ( $271,5 \pm 31,5$  мг/л при  $20 \text{ мВт/см}^2$  проти  $111,4 \pm 1,82$  мг/л при  $1 \text{ мВт/см}^2$ ). Концентрація холестерину в сироватці крові не змінилася під впливом різних доз опромінення.

Несподіваним виявилось виражене зниження початкової концентрації МДА у тканинах печінки, до ( $p < 0,02$ ) і після інкубації ( $p < 0,001$ ) (в середньому в 2,5 раза). При цьому на 20% знизився приріст МДА за час інкубації. Активність СОД зросла у 1,7 раза (мал. 2).



Малюнок 2. Концентрація МДА і СОД у тканинах печінки шурів після лазерного опромінення.

Таблиця 2.

Стан ВРПО і АОЗ крові після дії на шурів різних доз лазерного опромінення

Показник	Норма	Лазерне опромінення	
		1 мВт/см <sup>2</sup>	20 мВт/см <sup>2</sup>
Концентрація дієвих кон'югатів, мкмоль/л	51,1±3,79	59,1±5,60	-
Концентрація МДА до інкубації, мкмоль/л	12,8±1,05	14,1±0,78	16,9±3,89
Концентрація МДА після 1,5 год інкубації, мкмоль/л	29,2±1,3	23,4±2,43 (p<0,05)	40,5±5,04 (p<0,05)
Приріст МДА за 1,5 год інкубації, мкмоль/л	16,5±0,56	9,4±1,61 (p<0,001)	23,5±4,5
Приріст МДА за 1,5 год інкубації, %	129	67	138
Індукована хемілюмінесценція: максимальна, імп.	4853±4,90	-	4842±235
Індукована хемілюмінесценція: сумарна, імп/60 сек.	53631±1378	-	57134±3338
Переокисна резистентність еритроцитів, % гемолізу	5,2±0,36	6,2±0,41 (p<0,05)	5,9±0,36
Активність каталази, од.	1,7±0,03	1,4±0,05 (p<0,001)	1,1±0,09 (p<0,001)
Активність супероксиддисмутази, од.	1,98±0,55	1,25±0,03 (p<0,1)	1,58±0,05
Концентрація церулоплазміну, мг/л	268±10,5	111,0±1,8 (p<0,001)	272±31,5
Концентрація холестерину, мкмоль/л	1,27±0,03	1,42±0,04 (p<0,01)	1,53±0,1 (p<0,02)

Слід відзначити, що порівняно з дозою опромінення у  $1 \text{ мВт/см}^2$  велика доза поглибила зміни величин початкового рівня МДА ( $14,8 \pm 1,5$  мкмоль/кг при  $20 \text{ мВт/см}^2$  і  $28,6 \pm 2,46$  мкмоль/кг при  $1 \text{ мВт/см}^2$ ,  $p < 0,001$ ) і активності СОД ( $16,66 \pm 1,247$  од. при  $1 \text{ мВт/см}^2$  і  $9,03 \pm 0,868$  од. при  $20 \text{ мВт/см}^2$ ,  $p < 0,002$ ). Порівняно з дією дози опромінення у  $1 \text{ мВт/см}^2$  доза у  $20 \text{ мВт/см}^2$  сприяла зниженню концентрації МДА після інкубації ( $57,38 \pm 6,13$  мкмоль/кг при  $1 \text{ мВт/см}^2$  проти  $19,24 \pm 1,65$  мкмоль/кг при  $20 \text{ мВт/см}^2$ ,  $p < 0,001$ ) і його приросту за час інкубації ( $28,6 \pm 4,29$  мкмоль/кг при  $1 \text{ мВт/см}^2$  проти  $4,35 \pm 1,57$  мкмоль/кг при  $20 \text{ мВт/см}^2$ ,  $p < 0,002$ ). Таким чином, десятиденне опромінення шкіри шурів гелій-неоновим лазером дозою  $20 \text{ мВт/см}^2$  різко знижувало вміст МДА і активність субстратіндукованої СОД, тобто гальмувалися процеси перекисного окислення у тканинах печінки. Аналогічне зниження вмісту МДА до і після інкубації (відповідно у 2,25 і 2,55 рази) відмічалось у тканинах нирок порівняно з нормою, при цьому приріст МДА знизився у 4 рази. Але активність СОД у тканинах нирок істотно не змінилася.

Подібним чином знижувався вміст початкового рівня МДА (1,6 рази) і концентрації МДА після інкубації (1,8 рази) і його приріст за час інкубації (у 2,4 рази) у тканинах мозку опромінених тварин, проте активність СОД у тканинах мозку виросла у 2 рази.

У тканинах серця опромінення гелій-неоновим лазером потужністю  $20 \text{ мВт/см}^2$  сприяло зниженню концентрації МДА після інкубації ( $p < 0,02$ ) і його приросту за час інкубації на 40% ( $p < 0,002$ ). Активність СОД не змінилася.

Морфологічними і каріометричними дослідженнями тканини печінки у експериментальних тварин, опромінених лазерним випромінюванням дозою  $20 \text{ мВт/см}^2$ , встановлено, що у периферичних відділах печінкової дольки визначаються порушення кровообігу у вигляді венозного повнокрів'я, яке призводить до розширення просвіту центральної вени, а також синусоїдів, які радіально відходять від неї. Гепатоцити, розташовані поблизу центральної вени, підлягають вираженій зернистій дистрофії з накопиченням різної величини брилок білка. Крім того, у одиничних гепатоцитах визначається гідропічна дистрофія у вигляді перінуклеарних вакуолей.

У проміжних зонах печінкових долек експериментальних тварин відмічається переважна дистрофія у гепатоцитах. Печінкові балки дисконтактовані за рахунок нерівномірно вираженого просвіту простору Діссе. У останніх виявляються одиничні Купферовські клітини, ядра гепатоцитів приблизно однакові, добре контуруються. Гепатоцити розташовуються поблизу системи триад, мають виражену еозинофільну цитоплазму, слабо впорядковану трабекулярну структуру. Як правило, гепатоцити містять два ядра округлої форми, у деяких гепатоцитах визначаються фігури мітозу.

При гістологічному забарвленні способом Шабадаша гепатоцити, розташовані у перипортальній зоні, постійно містять великі брилки глікогену.

Електронномікроскопічно в указаній печінковій зоні між сусідніми гепатоцитами у біліарних смугах постійно помітні жовчні капіляри. У цитоплазмі гепатоцитів помітні ліпідні краплі, багато мітохондрій. У ядрі під каріолемою постійно розташований крупно-бриластий еухроматин. Ядерця розташовуються у тісному контакті з каріолемою. Указані електронномікроскопічні зміни свідчать про поверхневу стадію дезорганізації гепатоцитів, а також про початок процесу реплікації ДНК і посилення синтетичних процесів у цитоплазмі гепатоцитів.

Для підтвердження цього положення нами проведені каріометричні дослідження з визначенням Ig об'єму ядра гепатоцитів, розташованих у 3-х вищевказаних зонах.

Установлено, що у периферичних зонах гепатоцити містять ядра з Ig об'єму 1,5, у проміжних зонах максимальний пік ядерного класу IgV=1,8, зрештою, у перипортальних зонах максимальний ядерний клас IgV=2,4.

Відношення між 3-а піками становить 1:2:4. Ця геометрична прогресія описана для печінки Jacobі (1935). Вона описана як ритмічне збільшення об'єму ядра. На думку А.Е.Хесіна (1968) ця прогресія зумовлена або кратним збільшенням ДНК, або за рахунок кратного збільшення хромосом.

Отже, установлене збільшення ядер гепатоцитів у перипортальних ділянках дольок зумовлюється збільшенням вмісту ДНК і відповідно у такому напрямку підвищуються синтетичні процеси гепатоцитів, тобто підтверджується положення, висловлене К.Кормаком і А.Хемом про те, що фізіологічна регенерація печінкових дольок здійснюється з перипортальної зони до центральної вени. Проведений підрахунок мітотичного режиму клітин портальної зони дозволив установити, що найчастіше на периферії печінкової дольки зустрічаються гепатоцити у стадії метафази (80%) і телофази (60%). Профаза і анафаза майже у 2 рази зустрічаються рідше. Серед патологій профазі часто зустрічається пульверизація хромосом, у метафазі - моноцентричний мітоз, у телофазі - двох'ядерність.

Таким чином, результати проведених досліджень у тварин після опромінення лазером свідчать про те, що в центральних ділянках печінкової дольки виникає розлад кровообігу (повнокрів'я у центральній вені).

Поширений розлад кровообігу супроводжується дистрофічними процесами (зерниста дистрофія, гідролічна дистрофія, зниження глікогену - вуглеводнева дистрофія).

Периферичні відділи печінкових дольок у відповідь на дистрофічні зміни реагують посиленням синтетичних процесів, реплікацією ДНК, збільшенням кількості мітозів.

Отже, у експериментальних тварин при лазерному опроміненні посилюється фізіологічна репарація тканин.

### 3. Математичне моделювання особливостей дії $\gamma$ - і лазерного опромінення на функціональні зміни у експерименті.

Моделювання впливу дії  $\gamma$ - і лазерного опромінення на тварин в експерименті складаються з кількох етапів.

- визначення множинності фізіологічних параметрів досліджуваних тварин для проведення експерименту;
- виділення раціональної множинності параметрів (формулювання однакового простору);
- оцінка інформативності кожної ознаки (параметра);
- корекція однакового простору при зміні фізіологічного фактора на досліджуваних тваринах;
- виявлення ознак, що впливають на ПОЛ, АОЗ і мітози гепатоцитів.

Як показують літературні дані (Курчанов В.Н., Ланнэ А.А., 1985), добре розроблений програмно-математичний апарат дозволяє здійснити пошук функціональної залежності параметрів, їх взаємовплив, забезпечує обробку даних у реальному масштабі часу з необхідною точністю.

Внаслідок проведених досліджень ми одержали статистичні дані, які дозволяють оцінити якісні зміни досліджуваних параметрів у тварин (щурів) і оцінити вплив  $\gamma$ - і лазерного опромінення залежно від початкового стану тварин. Застосований інформаційно-математичний аналіз з використанням  $\Sigma\Pi$ -апроксимації і врахуванням 26 параметрів об'єктивного стану тварин до і після опромінення, з урахуванням доз і видів опромінення дозволив:

- виявити особливості реагування тварин на дію фізичних факторів  $\gamma$ - і лазерного опромінення з урахуванням початкового стану;
- вивести формулу інформативності, яка на основі оцінки зміни досліджуваних показників покаже активацію ПОЛ, послаблення АОЗ, у співставленні зі спостереженням патології мітозів гепатоцитів;
- дози і види опромінення призводять до якісно нових змін у процесах ПОЛ і АОЗ, в ультраструктурі гепатоцитів.

Вирішити ці завдання дозволили розроблені нами комп'ютерні програми з виведеною формулою взаємозв'язку аналізованих параметрів і фізіологічним явищем, якому піддавалися тварини:

- коефіцієнт нелінійного полінома  $F = \sum_{j=0}^2 \sum_{i=0}^2 \sum_{k=0}^2 C_{ijk} (\sum_{e=1}^6 A_e^{(j)} B_e^{(i)}) (\sum_{e=1}^6 A_e^{(k)} B_e^{(2)})^{1/2}$
- параметри досліджуваної тварини  $(A_{e_i}^{(j)} - 1; 2)$
- вектор базисної функції  $(B_{e_i}^{(j)} - 1; 2)$
- нормувальний коефіцієнт  $(K_e)$

Використаний метод  $\Sigma\Pi$ -апроксимації дозволив зробити висновок про правильність вибору параметрів під час досліджень, що підтвердила інформаційно-математична обробка. При вивченні ПОЛ і АОЗ необхідно дослідити зміни таких фізіологічних параметрів - інтенсивність індукованої хемілюмінесценції, ПРЄ (перекисної резистентності еритроцитів), активність каталази, концентрацію церулоплазміну і МДА до і після інкубації та його приріст за час інкубації у крові, а у тканинах печінки, нирок, мозку, серця -

МДА до і після інкубації, його приріст за час інкубації і активність СОД.

#### 4. Порівняння дії різних доз лазерного і $\gamma$ -опромінення.

10-хвилинне опромінення гелій-неоновим лазером ( $\lambda=632,8$  нм) щоденно протягом 10 днів проводили дозами 1 мВт/см<sup>2</sup> і 20 мВт/см<sup>2</sup>. Очевидно, випромінювання поглинається ділянкою шкіри, де наявні кровоносні капіляри, при цьому частина енергії квантів світла перетворюється у теплову, частина акцептується хромоформними угрупованнями, що мають ароматичне ядро, яке може бути зв'язане з іонами металів. У результаті цих двох ефектів модулюються хімічні властивості (міцність зв'язків). Регулятивні зміни зворотним зв'язком впливають на центральні органи регуляції і модулюють стан усього організму.

При аналізі змін при порівнянні дії лазерного і  $\gamma$ -випромінювання у різних дозах виявляється однакова спрямованість змін при дії лазерного випромінювання високої дози у таких випадках: у крові - МДА після інкубації, приріст МДА, активність каталази, вміст церулоплазміну; у тканинах печінки - вміст МДА до і після інкубації; у тканинах нирок - вміст МДА до і після інкубації, його приріст, активність СОД; у тканинах мозку - вміст МДА до і після інкубації, його приріст, активність СОД; у тканинах серця - вміст МДА до і після інкубації, його приріст, активність СОД.

Дуже великі відмінності відзначаються у спрямованості змін при порівнянні великої дози  $\gamma$ -опромінення і дією лазерного опромінення: це стосується активності каталази крові, початкової концентрації МДА, активності СОД у тканинах. Можна припустити, що лазерне опромінення дозою 20 мВт/см<sup>2</sup> за день протягом 10 днів і одноразове опромінення дозою 0,25 Гр створює стресову ситуацію, яка компенсується захисно-приспосувальними силами організму і спрямована на активацію підтримки гомеостазу. Доза  $\gamma$ -опромінення 2,5 Гр призводить до переважання деструктивної дії, декомпенсованої антиоксидантним захистом. Цей стан близький до зриву АОЗ. Можна вважати, що  $\gamma$ -опромінення дозою 2,5 Гр робить більш масивний радіоліз води і біополімерів, особливо ДНК.

Якщо у випадку лазерного опромінення 20 мВт/см<sup>2</sup> відзначається зерниста дистрофія і фізіологічна генерація гепатоцитів, то при  $\gamma$ -опроміненні дозою 2,5 Гр відзначаються фокальні коліквациїні некрози, жирові вакуолі, порушення ядер і мітозів гепатоцитів. Фрагментація хромосом, наявність мостів, мікроядер, К-мітозу, що сприяє анеуплоїдії.

Одноразова дія великих і малих доз  $\gamma$ -опромінення по-різному впливає на антиоксидантний статус організму.  $\gamma$ -опромінення певною мірою знижує процеси пероксидації у крові, але доза 0,25 Гр зменшує активність каталази і підвищує продукт МДА за час інкубації. Мала доза опромінення сприяє зниженню (зважаючи на рівень МДА) інтенсивності процесів пероксидації у тканинах, активуючи при цьому в них СОД. Можливо, тканини відтягують на себе есенціальні низькомолекулярні антиоксиданти. При великій дозі опромінення 2,5 Гр інтенсифікуються процеси пероксидації у тканинах

(зважаючи на зростання рівня МДА). З одного боку, це пов'язане з посиленням радіолізу води, з утворенням вільних радикалів кисню, зменшенням частки кисню, який іде на тканинне дихання; з іншого боку, це пов'язане з гальмуванням біосинтезуючих процесів, зокрема, синтезу СОД і церулоплазміну. Розвиток білкової і жирової дистрофії певною мірою підтверджує ці механізми. Пошкодження тканин при опроміненні призводить до некрозу. Дезорганізація метаболізму, пряма дія ліпідних перекисів і сам радіоліз сприяють пошкодженню ДНК. Одночасно радіація пригнічує систему репарації ДНК. Внаслідок цього спотворюється фізіологічна регенерація клітин: клітини вступають у мітоз, але ймовірно саме в цей період хромосоми найбільш сприйнятливі до пероксидації, що і призводить до патології мітотичного режиму клітин.

Таким чином, поширена у літературі думка про те, що печінка мало чутлива до дії радіації (Москалев Ю.И., 1991; Ярмоненко С.П., 1977), не збігається з одержаними нами даними біохімічного і гістологічного досліджень. Проте печінка, як орган з інтенсивним метаболізмом, зокрема детоксикаційним, здатна протягом певного часу репарувати деякі порушення.

При дії лазерного опромінення можливі передача сигналу від зони дії лазера на шкіру через кров у печінку опосередковується факторами моноцитів крові і найбільше проявляється у перипортальних ділянках печінкової дольки. Збільшення кількості клітин у стадії метафази і телофази може бути пов'язане з ростом відновних еквівалентів (зважаючи на зниження МДА, падіння прооксидантних властивостей, компенсованих збільшенням відновних антиоксидантів).

Затримка мітозів у метафазі (К-мітоз) і фрагментація хромосом сприяє полплоїдії гепатоцитів. Лазерне опромінення, як свідчать представлені дані, сприяє повній репаративній регенерації, а  $\gamma$ -опромінення - патологічній регенерації, що може бути пов'язане з тканинним імунітетом (зниженням кількості ендотеліоцитів, купферовських клітин, моноцитів, Pit-клітин, зважаючи на диференційоване забарвлення). Можливо, посилення пероксидації у тканинах посилює окисну деструкцію вільних сульфгідрильних груп ниток веретена поділу. Вважаємо, що як посилення прооксидантного потенціалу, окислення SH-груп білків і сполучення їх дисульфідними місточками -S-S-, так і посилення антиоксидантного потенціалу (відновлення дисульфідних місточків у -SH-групах) призводить до порушення білків ниток веретена поділу, а, отже, до патології окремих стадій мітозу.

Для вивчення дії лазерного і  $\gamma$ -випромінювання на організм експериментальних тварин був проведений експеримент з поєднаною дією: тварин 10 днів опромінювали гелій-неоновим лазером ( $20 \text{ мВт/см}^2$ ), причому на 5-й день піддавали  $\gamma$ -опроміненню. Виявлені зміни відповідали таким, як при дії лише  $\gamma$ -випромінювання.

У наступній серії досліджень одночасно з комбінованою дією 10 днів вводили перорально  $\beta$ -каротин ( $5 \text{ мг/кг}$  маси тіла),  $\alpha$ -токоферолу ацетат

(20 мг/кг), аскорбінову кислоту (50 мг/кг), селеніт натрію (25 мкг/кг), кверцетин (50 мг/кг).

При введенні тваринам у щоденний раціон протягом 10 днів комплексу вітамінів Є, С, Р, β-каротину і селену відмічений позитивний їх вплив, що виражається у нормалізації процесів ПОЛ і ВРО. Слід також відзначити, що хоча комплекс екзогенних і есенціальних біоантиоксидантів в умовах поєднаної дії високих доз лазерного і γ-опромінення і впливає позитивно на параметри крові, але не змінює рівень пероксидації у тканинах печінки. Отже, навіть при введенні в організм потужних антиоксидантів існує велика небезпека поєднаної дії лазера і радіації у великій дозі.

Проведений математичний аналіз ΣП-апроксимації інформативності основних показників гомеостазу:

- на рівні організму - фізіологічного антиоксидантного статусу крові (ГРЕ, МДА до і після інкубації та його приріст за час інкубації, активність каталази, СОД, вміст церулоплазміну і холестерину);

- на рівні органа - у тканинах печінки, нирок, мозку і серця (МДА до і після інкубації та його приріст за час інкубації, активність СОД);

- на тканинному рівні - цитофізіологія і ультраструктура клітин печінки;

- на клітинному рівні - каріоваріограма інтерфазних клітин, клітин у стадії поділу, крім того, враховувалися клітинні зміни з використанням електронної мікроскопії гепатоцитів і макрофагів.

Цей метод дав можливість об'єктивно оцінити стан ВРО і АОЗ, цитофізіологію і ультраструктуру гепатоцитів.

Одержана математична формула взаємозв'язку параметрів модулює стан тварин до і після γ- або лазерного опромінення і може бути надалі використана для побудови діагностичного тесту.

Розгляд особливостей антиоксидантного статусу і перекисного окислення у крові, печінці та інших органах, цитофізіології та ультраструктури гепатоцитів при дії γ- або лазерного опромінення може бути основою для пошуків фармакологічної корекції.

#### **В и с н о в к и:**

1. У щурів при дозі лазерного опромінення 1 мВт/см<sup>2</sup> щоденно протягом 10 днів відбувається ріст спонтанного гемолізу еритроцитів, зниження приросту МДА у крові після інкубації, активності каталази у крові, зростання активності СОД у тканинах печінки.
2. У тварин при дозі опромінення 20 мВт/см<sup>2</sup> протягом 10 днів спостерігається збільшення вмісту МДА після інкубації крові, холестерину в сироватці крові, зниження активності каталази крові, вмісту МДА і його фракцій, нерівноцінності гепатоцитів різних ділянок печінкової дольки, асинхронність мітозів - затримка телофази, наявність повної анафази, хромосомних мостів у анафазі і телофазі.
3. На п'ятий день після γ-опромінення дозою 0,25 Гр у щурів виявлене зниження початкового вмісту МДА, холестерину у сироватці, збільшення

- вмісту МДА після інкубації, інтенсивність хемілюмінесценції. У тканинах печінки поряд зі зниженням МДА до і після інкубації, його приростом за час інкубації зростала активність СОД
4. У щурів на 5 день після  $\gamma$ -опромінення дозою 2,5 Гр установлене зниження МДА до і після інкубації крові, його приросту за час інкубації, зниження вмісту церулоплазміну в сироватці крові при підвищенні хемілюмінесценції у сироватці крові, вміст МДА до і після інкубації у тканинах печінки. У печінці, крім дистрофії, відмічаються некрози, анеуплоїдія гепатоцитів, фрагментація хромосом у профазі, К-мітози - у метафазі, хромосомні мости - в анафазі, мікроядра - у телофазі.
  5. Застосований метод  $\Sigma$ П-апроксимації дав можливість об'єктивно оцінити стан ВРО і АОС, цитофізіологічні та ультраструктурні зміни гепатоцитів. Отримана математична формула взаємозв'язку параметрів, що характеризують ВРО і АОС, цитофізіологію і ультраструктуру гепатоцитів, моделює стан тварини до і після опромінення і може бути використана для побудови діагностичного тесту.
  6. Комплекс екзогенних і есенціальних біоантиоксидантів (С, С, Р, А, Se) в умовах поєднаної дії високих доз лазерного і  $\gamma$ -опромінення позитивно впливає на параметри крові, але не змінює високий рівень пероксидації у тканинах печінки. Це вказує на небезпеку спільної дії лазерного і  $\gamma$ -опромінення у великих дозах, навіть при введенні в організм антиоксидантів.
  7. Досліджувані дози  $\gamma$ - і лазерного опромінення через процеси зміни антиоксидантного статусу впливають на репарацію тканин печінки, що повинне враховуватися у клінічній практиці у хворих з порушеннями цього органа.

### **Список опублікованих робіт, які відображають основні положення дисертації.**

1. Состояние свободно-радикального окисления липидов при облучении гелий-неоновым лазером / Научно-технический прогресс, здоровье сельского населения, прикладные и фундаментальные проблемы медицины и биологии (Областная конференция). - Полтава. - 1989. - С. 277. (соавт. Коваленко Э.Г., Коровина Л.Д.)
2. Прооксидантные диеты и антиоксидантный статус / III Всесоюзная конференция «Биоантиоксидант». - М. - 1989. Т. II. - С. 261. (соавт. Бречко В.В., Катрушов А.В., Литвиненко Н.В. и др.)
3. Сравнение ряда показателей обмена при антиоксидантной недостаточности // Физиология и патология перекисного окисления липидов, гемостаза и иммуногенеза - Полтава. - 1990. - С. 37-38. (соавт. Подзоров С.С., Новак А.К. и др.)
4. Влияние излучения гелий-неонового лазера на антиоксидантную и иммунную систему // «Физиология и патология перекисного окисления

липидов, гемостаза и иммуногенеза».- Полтава - 1991. - С.35. (соавт. Коровина Л.Д., Коваленко Э.Г., Важничая Е.М.).

5. Коррекция экспериментальных патологий с синдромом перекисидации / I міжнародний конгрес з інтегральної антропології 25-29 вересня 1995. - С.337. (соавт. Цебржинский О.И., Павленко А.П., Пархоменко В.К., Литвиненко Н.В., Мищенко В.П.).
6. Порівняння ефектів перекисидації при дії різних доз  $\gamma$ -опромінення / Актуальні питання теоретичної та клінічної медицини на сучасному рівні / Полтава - 1996. - С.312.
7. Гістологічна характеристика тканини печінки після дії лазерного опромінування // Актуальні питання морфології. Міжнародна конференція. - Тернопіль. - 1996. С.786.
8. Патологічні зміни тканин печінки після малого  $\gamma$ -опромінення в експерименті // Актуальні питання морфології. Міжнародна конференція. - Тернопіль. - 1996. С.787. (соавт. Островська Т.И., Цебржинський О.И.).
9. Влияние излучения гелий-неонового лазера на процессы перекисидации / Вестник проблем биологии и медицины. — Харьков-1997, № 1. — С.91-95.
10. Влияние излучения гелий-неонового лазера на гистологические особенности печени крыс / Вестник проблем биологии и медицины. — Харьков-1997, № 1. — С.96-101.

#### **Раціоналізаторські пропозиції, зареєстровані в Українській медичній стоматологічній академії (м.Полтава)**

1. Модификация способа определения кислотной резистентности эритроцитов // В сб. ПМСИ «Раціоналізаторські пропозиції в медицині». - Полтава - 1985. - С.153. (соавт. Подтреба А.И., Пилогин В.А. и др).
2. Камера для регистрации хемилюминесценции в биологических жидкостях. - N 1063 от 27.03.1985. (соавт. Лазарович В.Г., Черныш Б.В.).
3. Комбинированная кювета для регистрации хемилюминесценции в биосубстратах. - N 1087 от 12.05.1985. (соавт. Лазарович В.Г., Лазарович Н.В.).
4. Способ определения диаметра эритроцитов с использованием ГНЛ. N 2001 от 17.02.1986. (соавт. Ванян Д.Я., Лазарович В.Г.).
5. Установка для определения диаметра эритроцитов с использованием ГНЛ. N2002 от 17.02.1986. (соавт. Максимук Ю.О., Велиев Э., Ванян Д.Я.).

**Анотація**

Пилипченко В.І. Перекисне окислення, антиоксидантний захист і мітотичний режим клітин печінки при дії лазерного і  $\gamma$ -опромінення на організм експериментальних тварин. Рукопис дисертації на здобуття вченого ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.13 - фізіологія людини і тварин. Сімферопольський державний університет, Міністерство вищої і середньої спеціальної освіти України, Сімферополь, 1996.

Захищаються 10 наукових публікацій і 5 раціоналізаторських пропозицій, які містять результати експериментальних досліджень особливостей стану прооксидантно-антиоксидантної системи, гістологічної будови печінки, цитофізіологічного режиму мітозів при дії на білих шурів двох доз опромінення гелій-неонового лазера і двох доз  $\gamma$ -опромінення. Виявлені математичним моделюванням найбільш інформативні показники вільнорадикального перекисного окислення і антиоксидантного захисту у порівнянні зі змінами цитофізіології мітозів і ультраструктури гепатоцитів. Результати дослідження впроваджені у практику.

**Annotation**

V. I. Pylpchenko Peroxide oxidation, antioxidant protection and mitotic regime of liver cell under laser and  $\gamma$ -irradiation of organism of experimental animals. Manuscript of a theses of Candidate of biological science on the speciality 03.00.13 - Physiology of a human being and animal. Simpheropol State University. Ministry of higher education of Ukraine. Simpheropol.-1996.

Under defence are: 10 publications and 5 rationalisations which contain the results of experimental investigations of peculiarities of the condition of peroxidant-antioxidant system, hystological structure of liver, cytophysiological regime of mitoses in case in influence of two doses of the helium-neon laser and two doses of  $\gamma$ -irradiation on Wistar rats. By means of mathematical modelling the most informative indexes of free radical peroxide oxidation and antioxidant protection in comparison with changes in cytophysiological mitosis and ultrastructure of hepatocytes were revealed in this investigation. The results are inculcated in practice.

Ключові слова: опромінення гелій-неоновим лазером,  $\gamma$ -опромінення, пероксидація, антиоксиданти, кров, печінка, мітотичний режим, ультраструктура гепатоцитів.

---

Підписано до друку 26.12.96. Формат 60×84/16.  
Папір офсетная. Друк плоский. Умовн. друкар. арк. 1,0.  
Тираж 101 прим. Замовлення №574.  
Редакційно-видавничий відділ.  
Українська медична стоматологічна академія,  
м.Полтава, вул. Шевченка, 23

440573

AB 36.677

**AB 36.677**