

**УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»**

УДК 572.7+591.4]:[612.35:616.36-004]

ЛЕБЕДЕВА
Елена Ивановна

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕЧЕНИ БЕЛОЙ КРЫСЫ И ЧЕЛОВЕКА
В НОРМЕ И ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

по специальности 03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Минск 2016

Научная работа выполнена в учреждении образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Научный руководитель: **Мяделец Олег Данилович,**
доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой гистологии, цитологии
и эмбриологии учреждения образования
«Витебский государственный ордена Дружбы
народов медицинский университет»

Официальные оппоненты: **Зиматкин Сергей Михайлович,**
доктор биологических наук, профессор,
заведующий кафедрой гистологии, цитологии
и эмбриологии учреждения образования
«Гродненский государственный медицинский
университет»

Красочко Петр Альбинович,
доктор ветеринарных наук, доктор
биологических наук, профессор, директор
Республиканского научно-исследовательского
дочернего унитарного предприятия «Институт
экспериментальной ветеринарии имени
С.Н. Вышелесского»

Оппонирующая организация: учреждение образования «Гомельский
государственный медицинский университет»

Защита состоится 10 июня 2016 года в 14.30 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.03 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, e-mail: uchsovet@bsmu.by.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан « » мая 2016 года.

Ученый секретарь совета
по защите диссертаций,
доктор медицинских наук, доцент



Н. А. Трушель

ВВЕДЕНИЕ

Изучению строения печени белой крысы и человека в норме и при токсическом поражении посвящено большое количество работ [Усынин И. Ф., 2007; Согуйко Ю. Р. и др., 2013; Могилевец Э. В. и др., 2015; Ferri D. et al., 2005; Rocco A. et al., 2014; Dugum M., 2015; Kim D. H. et al., 2015; Soliman H. M. et al., 2015]. Среди актуальных проблем морфологии особое внимание заслуживают сравнительные данные о морфофункциональной характеристике печени у экспериментальных животных и человека и их видовые различия [Арутюнян И. В. и др., 2012; Чепур С. В. и др., 2012]. В научной литературе имеются разрозненные данные о морфометрических показателях гепатоцитов печени крысы и человека в норме и в динамике развития токсического цирроза. Практически нет сведений, раскрывающих морфофункциональные изменения в печени крыс в динамике развития токсического цирроза с учетом половых различий [Малинин М. Л. и др., 2008; Шендер Э. М., 2009]. Практически отсутствуют сведения, посвященные значению липофуцина в норме и при токсических поражениях печени [Ефимов А. А. и др., 2009; Wang X. et al., 2008; Masia R. et al., 2012]. Немногочисленны работы, в которых рассматривается количественная и качественная гистохимическая оценка содержания в печени гликогена [Безбородкина Н. Н. и др., 2008; Saxena P. et al., 2010; Mrabanzi L. et al., 2012]. Отсутствуют точные морфометрические показатели и гистохимическое исследование активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и цитохромоксидазы (ЦХО) в гепатоцитах печени крысы и человека в норме и при токсическом поражении.

Таким образом, современные представления о морфофункциональном состоянии печени белой крысы и человека в норме и в динамике развития токсического цирроза фрагментарны и противоречивы и обуславливают необходимость дальнейших исследований.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами и темами

Диссертационное исследование выполнено в рамках темы научно-исследовательской работы кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» «Сравнительная морфофункциональная характеристика митохондрий гепатоцитов печени беспородной белой крысы и человека в норме, алкогольном гепатите и циррозе» (№ государственной регистрации – 20150335, дата регистрации от 27.03.2015).

Цель и задачи исследования:

Цель исследования – установить морфофункциональные особенности печени у белой крысы и человека в норме и при ее токсическом поражении.

Задачи исследования:

1. Установить сравнительные морфофункциональные характеристики печени у белой крысы и человека в норме.
2. Смоделировать экспериментальный цирроз у животных с помощью четыреххлористого углерода и этанола для изучения его морфофункциональной динамики.
3. Провести сравнительный анализ морфофункциональных изменений печени у белой крысы и человека с учетом индивидуальных и половых особенностей.
4. Определить в сравнительном аспекте степень влияния циррозогенных факторов на морфометрические, гистохимические и биохимические показатели печени белой крысы и человека.

Объект исследования – печень и сыворотка крови белой крысы и человека.

Предмет исследования – морфометрические, гистохимические и биохимические показатели печени в норме и при ее токсическом поражении.

Научная новизна

Впервые в сравнительном аспекте представлены морфометрические показатели средней площади гепатоцитов и их ядер, ядерно-цитоплазматического отношения и количества двуядерных гепатоцитов в печени белой крысы и человека в норме и на различных стадиях токсического поражения печени с учетом их половой принадлежности.

Получены новые данные по качественной и количественной характеристике содержания липофусцина, гликогена, сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы в гепатоцитах белой крысы и человека на различных стадиях токсического поражения печени с учетом их половой принадлежности.

Установлена степень влияния циррозогенных факторов на морфометрические, гистохимические и биохимические показатели печени у белой крысы и человека с применением параметрического дисперсионного анализа.

Модифицированы гистохимические методы окраски липофусцина, нейтральных липидов, соединительной ткани в печени при фиброзе, а также методика моделирования токсического цирроза у беспородных белых крыс.

Положения диссертации, выносимые на защиту

1. В условиях нормы в структуре печени белой крысы и человека имеются видовые и половые морфометрические и гистологические различия. Показатели ядерно-цитоплазматического отношения и средней площади ядер у крыс существенно выше, чем у людей. У людей показатели средней площади соединительной ткани и количества двуядерных гепатоцитов более высокие по сравнению с крысами. В печени белой крысы и человека отмечается значительное количество темных и двуядерных клеток, отсутствие митотически делящихся гепатоцитов, липидов и липофусцина.

2. Развитие экспериментального цирроза у белых крыс происходит медленно, и его морфологические признаки у всех животных определяются лишь через 16 недель после начала эксперимента. У самцов цирроз выявляется на 3 недели раньше, чем у самок. Токсическое поражение печени у белой крысы, как и у человека, проявляется некрозом гепатоцитов, выраженной жировой дистрофией, разрастанием соединительной ткани и образованием ложных долек.

3. Цирроз печени у белой крысы и человека сопровождается значительными патогистологическими и функциональными изменениями, которые имеют видовые и половые морфометрические различия. У самок более выражен альтеративный путь развития цирроза, а у самцов – пролиферативный. Очаговый слабо выраженный интерстициальный гепатит у крыс появляется на фоне сформированного цирроза, а у людей он предшествует циррозу печени. Регенераторно-компенсаторные изменения в гепатоцитах при развитии цирроза печени у крыс протекают за счет гипертрофии одноядерных гепатоцитов, тогда как у людей – за счет увеличения количества двуядерных клеток.

4. При гистохимическом исследовании в печени белой крысы и человека в норме и на разных стадиях развития в ней цирротического процесса выявляются половые и видовые морфологические и морфометрические различия в локализации и активности сукцинатдегидрогеназы, цитохромоксидазы, содержании гликогена, липофусцина и липидов.

5. По результатам дисперсионного анализа в печени белой крысы установлено более выраженное влияние циррозогенных факторов на показатели средней площади гепатоцитов, их ядер, ядерно-цитоплазматического отношения, выраженность соединительной ткани, количество в гепатоцитах гликогена, активность сукцинатдегидрогеназы, на уровне в сыворотке крови аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, общего холестерина и общего билирубина. У людей более выраженная степень этого влияния определяется в отношении содержания липидов, активности цитохромоксидазы и гаммаглутамилтранспептидазы.

Личный вклад соискателя

Автором совместно с научным руководителем определены цель и задачи диссертационной работы, проведено планирование исследования, определен выбор используемых методов и объем материала. Соискателем разработана первичная учетная документация, выполнено экспериментальное исследование на белых крысах, освоены методы изготовления гистологических препаратов, произведено их изучение и микрофотографирование; выполнены морфометрические измерения и описание гистологических препаратов; проведена статистическая обработка полученных данных, а также интерпретация результатов. Написание текста диссертации и автореферата осуществлялось лично автором.

По материалам диссертации опубликованы статьи и тезисы, в которых изложена морфофункциональная характеристика печени белой крысы и человека в норме [5, 9] – вклад соискателя 85%; модификация методов окрашивания соединительной ткани, нейтральных липидов в печени при фиброзе, и методика моделирования токсического цирроза [6, 11, 12, 19, 20] – вклад соискателя 95%; морфофункциональные изменения печени крысы и человека при токсическом поражении [8, 9, 15, 16, 21, 22, 23, 26, 32] – вклад соискателя 85%; гистохимическая и морфометрическая оценка содержания гликогена и митохондриальных ферментов в гепатоцитах в норме и при токсическом поражении [3, 7, 18, 24, 25, 29, 30] – вклад соискателя 90%; гистологическая характеристика липофусцина в печени крысы и человека при токсическом поражении [4, 27, 31] – вклад соискателя 95%; динамика биохимических показателей сыворотки крови крысы и человека при токсическом поражении [1, 2, 13, 14, 17] – вклад соискателя 90%; сравнительная морфофункциональная характеристика печени белой крысы и человека в норме и при токсическом поражении [10, 28, 33] – вклад соискателя 95%.

Разработана и утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь инструкция по применению [34].

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов

Результаты исследований, включенных в диссертационную работу, докладывались и обсуждались на конференциях: 65-й, 66-й и 67-й итоговых научно-практических конференциях студентов и молодых ученых «Актуальные вопросы современной медицины и фармации» (Витебск, 2013-2015); 69-й и 70-й научных сессиях сотрудников университета «Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации» (Витебск, 2014; 2015); XIII Международной научно-практической конференции «Студенческая медицинская наука XXI века» (Витебск, 2013); научно-практической конференции студентов и молодых ученых «Инновации в медицине и фармации – 2014» (Минск, 2014); республиканской

конференции молодых ученых с международным участием «Минский консилиум – 2014» (Минск, 2014); XIV международной научно-практической конференции (Новосибирск, 2014); научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора З. И. Ибрагимовой (Витебск, 2014); научно-практической конференции с международным участием посвященной 85-летию со дня рождения профессора П. И. Лобко (Минск, 2014).

Опубликованность результатов диссертации

По теме диссертации опубликованы 33 научные работы. Из них в рецензируемых научных журналах, включенных в перечень изданий ВАК Республики Беларусь, – 10 (из них 5 написаны в моноавторстве), в материалах конференций – 18, тезисов докладов – 3, в других изданиях – 2. Общий объем опубликованных научных материалов – 9,14 авторских листа.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 230 страницах текста компьютерного набора и состоит из введения, общей характеристики работы, основной части, которая включает восемь глав (обзор литературы, материалы и методы исследований, шесть глав собственных исследований), заключения, библиографического списка и приложений. Работа содержит 162 рисунка и 1 таблицу, которые занимают 35 страниц. Приложения занимают 38 страниц. Библиографический список занимает 21 страницу и включает 211 источников, в т.ч. 112 – на иностранных языках и 33 публикации соискателя.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Материал и методы исследования. Работа выполнена на материале, полученном от белых беспородных крыс и от людей. Исследование на 164 половозрелых крысах обоего пола весом 180-250 г проведено в осенне-зимний период. Все животные получены из вивария УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет» (УО «ВГМУ»). Содержание животных, выполнение различных процедур и вывод из опыта осуществлялись в соответствии с требованиями Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18.03.1986, ETS № 123) и «Правилами лабораторной практики РБ» (приложение к приказу Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 31 от 31.10.2006). Животные были разделены на группы: 6 опытных (n=12, 6 самцов и 6 самок) и контрольную (n=24, 12 самцов и 12 самок). 18 крыс (12 самцов и 6 самок) погибло во время проведения эксперимента, а 50 животных использовали для отработки модели. Была использована собственная модификация методики [6]. Токсический цирроз печени вызывали путем

внутрижелудочной затравки 40%-ным масляным раствором четыреххлористого углерода в дозе 0,2 мл/100 г массы животного два раза в неделю (нед) в утренние часы, за 4 часа до кормления в течение 19 нед. Параллельно с этим вместо воды в качестве питья крысы получали 5%-ный раствор этанола из поилок в режиме свободного доступа на протяжении всего опыта. Животных выводили из эксперимента через 3, 6, 9, 12, 16 и 19 нед в утренние часы декапитацией с применением гильотины под местной анестезией шейной области. Крыс контрольной группы выводили из опыта по окончании эксперимента.

Был изучен материал прижизненных пункционных биопсий печени человека. Для этого использовали биоптаты пациентов, направленных на гистологическое исследование печени для уточнения диагноза в УЗ «Витебская областная клиническая больница» и секционный материал, полученный от пациентов, умерших от заболеваний печени. Взятие секционного материала проводили на базе УЗ «Витебское областное клиническое патологоанатомическое бюро». На проведение данного исследования получено разрешение комитета по этике клинических испытаний при УО «ВГМУ» (протокол № 4 от 09.01.2013). Контролем служил материал печени относительно здоровых людей (биоптаты печени лиц, направленных военкоматами для исключения патологии и лиц, умерших от причин, не связанных с патологией печени). Критериями отбора пациентов в группу с алкогольной болезнью печени (АБП) являлись указание в анамнезе на регулярное употребление ими спиртных напитков и данных клинических и биохимических исследований. Был исследован материал от 24 мужчин и 29 женщин в возрасте от 22 до 65 лет. Биоптаты и секционный материал были разделены на 4 группы: 1-я – относительная норма (n=12, 6 мужчин и 6 женщин); 2-я – пациенты с алкогольным стеатозом (n=13, 7 мужчин и 6 женщин); 3-я – пациенты с острым алкогольным гепатитом (ОАГ, n=13, 6 мужчин и 7 женщин); 4-я – пациенты с алкогольным циррозом (АЦП, n=15, 5 мужчин и 10 женщин).

Кусочки печени животных и пациентов фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине, фиксаторах Рего и Шабадаша. Проводку материала осуществляли в автомате для гистологической обработки ткани STP-120 (тип «Карусель», Германия), заливку – на станции для заливки материала парафином ЕС350 (Германия). Из материала от каждого животного и пациента получали по одному блоку для каждого метода окраски и с помощью ротационного микротомы HM340E (MICROM, Laborgerate GmbH; Германия) готовили в среднем по 5 срезов толщиной 4 мкм, помещая их на предметные стекла. Были применены следующие методы исследования.

Общегистологические. *Окраска гематоксилином и эозином* в автоматическом программируемом приборе для цитологических и гистологических методик HMS70 (Германия).

Гистохимические. *Гликоген* выявляли по методу Шабадаша (контроль с амилазой слюны в термостате при 37⁰С в течение 30 мин). *Липофусцин* определяли в залитых в парафин образцах печени по методу Шморля в собственной модификации [34], *нейтральные липиды* – по методу Лизона и смесью суданов III, IV по методу В. Г. Елисеева в собственной модификации в нефиксированных криостатных срезах печени толщиной 10 мкм из замороженного в жидком азоте материала [20].

Гистоэнзимологические методы. В нефиксированных криостатных срезах печени толщиной 10 мкм из замороженного в жидком азоте материала изучали активность *сукцинатдегидрогеназы* (СДГ; КФ 1.3.99.1) по методу Нахласа с нитро-СТ и *цитохромоксидазы* (ЦХО; КФ 1.9.3.1) по методу Берстона. Контроль специфичности реакций осуществляли двумя способами: 1) инактивация ферментов высокой температурой (+80⁰С в течение 30 мин); 2) проведение реакций без субстратов.

Специальные методы окрашивания соединительной ткани (СТ). Для количественного выявления СТ применяли *метод Ван-Гизона* и *метод Маллори* с некоторыми собственными изменениями [19].

Биохимические методы. В качестве материала для биохимических исследований использовали сыворотку крови животных. Для определения активности аланинаминотрансферазы (АЛТ, Е/л) и аспартатаминотрансферазы (АСТ, Е/л) использовали кинетический метод IFCC (Международная федерация клинической химии) без пиридоксаля, гаммаглутамилтранспептидазы (ГГТП, Е/л) – кинетический метод. Содержание общего холестерина (ОХС, Ммоль/л) определяли энзиматическим колориметрическим РАР-методом (р-аминоантипириновый метод). Общий билирубин (ОБ, Мкмоль/л) определяли с диазониевой солью сульфаниловой кислоты. Биохимические анализы выполняли на биохимическом автоматическом анализаторе EuroLyser (EUROLab, Instruments GmbH; Австрия) с использованием стандартных диагностических наборов реактивов фирмы «Согмау» (Польша) согласно приложенным к ним инструкциям. Все биохимические исследования были выполнены в день взятия крови. У пациентов биохимический анализ крови, включающий в себя определение АЛТ (Е/л), АСТ (Е/л), ГГТП (Е/л), ОХС (Ммоль/л) и ОБ (Мкмоль/л), был проведен в стационаре больницы.

Морфометрические методы. Для морфометрического анализа данных использовали компьютерные программы анализа изображений Image Scope Color и cellSens Standard (Россия). С этой целью производили микрофотосъемку случайных полей зрения гистологических препаратов цифровой камерой OLYMPUS XC30 на базе микроскопа OLYMPUS BX51 (Япония) при увеличении окуляра SWH ×10 и объективов UPLanFL ×10, ×20, ×40, ×60, ×100 (не менее 10 полей зрения в каждом гистологическом срезе). Микроскопическое исследование

срезов печени производили при постоянном сравнении их с нормальными образцами. Определяли среднюю площадь гепатоцитов и их ядер в $\mu\text{м}^2$. Путем определения разности между площадью гепатоцитов и их ядер получали площадь цитоплазмы клеток, после чего вычисляли ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО). Цитоморфометрию проводили при увеличении $\times 600$. При увеличении $\times 200$ осуществляли подсчет двуядерных гепатоцитов (N) по описанной выше методике. Для оценки интенсивности гистохимических реакций на активность СДГ, ЦХО, содержание гликогена, липофусцина, липидов и степени разрастания СТ использовали показатели компьютеризированных морфометрических измерений. Программа высчитывает среднюю площадь, занимаемую СТ, СДГ, ЦХО, гликогеном, липофусцином и липидами в процентах к общей площади среза.

Статистические методы. Статистическую обработку данных и построение диаграмм размаха проводили с помощью лицензионной компьютерной программы Statistica 10.0 Advanced (русская версия). Так как размер групп не превышал 50 особей, анализ соответствия частотного распределения исследуемых признаков нормальному закону осуществляли по критерию Шапиро-Уилка, результаты которого соответствовали результатам критерия Лиллиефорса. При обработке данных с помощью параметрической статистики о достоверности различий судили по t-критерию Стьюдента, а статистические данные представляли в виде средних и их соответствующих доверительных интервалов (M (95% ДИ: $j-q$)). Для непараметрической статистики использовали U-критерий Манна-Уитни. Данные представляли в виде медианы и значения 15-го – 85-го перцентилей (Me (15%;85%)). Изучение значимости влияния циррозогенных факторов на ряд исследуемых признаков проводили с помощью параметрического двухфакторного дисперсионного анализа. Значимость влияния факторов в результате дисперсионного анализа определяли по величине (p-значения) соответствующего F-фактора. Влияние считалось значимым при $p < 0,05$. Степень влияния факторов на результативный показатель определяли путем расчета выборочного коэффициента детерминации (r^2), показывающего, какая доля общей вариации признака объясняется влиянием исследуемых факторов.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Сравнительная морфофункциональная характеристика печени белых крыс и человека в норме. В условиях нормы в печени половозрелой белой крысы и взрослого человека реализовался жестко сбалансированный структурный гомеостаз. На органном уровне он достигался прежде всего тесным взаимодействием стромы и паренхимы. Содержание соединительной ткани в печени низкое. Капсула органа достаточно тонкая, а внутريدольковая рыхлая соединительная ткань обнаруживалась у белой крысы только в вокругсосудистых зонах. Доля ее в печени самцов и самок составляла 1,00% ($p=0,360$), а у мужчин и

у женщин – 2,00% ($p=0,832$). Это обуславливало неотчетливое контурирование печеночных долек. Гомеостатические механизмы задействованы также на тканевом и клеточном уровне. Дольки печени имели отчетливое пластинчатое строение. Показателями тканевого и клеточного гомеостаза являлись: отсутствие митотически делящихся клеток; хорошее развитие наружной и внутренней пограничных печеночных пластинок, являющихся камбиальными зонами печени; наличие значительного количества двуядерных гепатоцитов. Их среднее количество составляло у самцов белой крысы 12,17, у самок – 12,00 ($p=0,829$), а у мужчин и женщин – 17,50 ($p=0,832$). Двуядерные гепатоциты у крыс чаще выявлялись группами (2-4) вблизи сосудов, реже наблюдались единичные клетки. У людей они чаще наблюдались группами (2-5) диффузно. Темные гепатоциты в печени крыс чаще отмечались группами (3-7) вблизи портальных зон и собирательных вен и реже (в отдельных дольках) отмечались единичные. Эти клетки в печени людей чаще, чем у крыс, выявлялись единично и реже – группами.

Средняя площадь гепатоцитов у самцов белой крысы составляла 498,86 мкм², а у самок – 422,09 мкм² ($p=0,002$). Средняя площадь ядер у самцов белой крысы составляла 77,02 мкм², а у самок – 66,57 мкм² ($p=0,000$). ЯЦО у самцов и у самок было равно 0,18 ($p=0,446$). Средняя площадь гепатоцитов у мужчин составляла 484,66 мкм², а у женщин – 495,40 мкм² ($p=0,707$). Средняя площадь ядер была равна у мужчин 58,58 мкм², у женщин – 61,20 мкм² ($p=0,623$). Показатель ЯЦО как у мужчин, так и у женщин составлял 0,13 ($p=0,813$).

Так же, как и в печени интактных крыс, в печени здоровых людей отсутствовали пигмент липофусцин и липиды. В гепатоцитах крыс в большем, чем у людей, количестве содержался гликоген. Средняя площадь, которую занимали клетки, окрашенные на гликоген на срезах, составляла у самцов белой крысы 59,95%, а у самок – 64,22% ($p=0,001$); у мужчин – 40,35%, а у женщин – 38,75% ($p=0,106$). Таким образом, по морфофункциональным показателям отмечено существенное сходство печени белой крысы и человека.

Более выраженные различия установлены при биохимическом исследовании сыворотки крови. Показатели активности АЛТ и АСТ у крыс существенно превышали аналогичные значения у людей. Уровни ГГТП и ОХС имели более высокое значение у людей. Выявлены половые различия у крыс по активности АЛТ ($p=0,005$), уровню ОБ ($p=0,005$) и ОХС ($p=0,000$). Эти различия могут быть связаны с различиями экологических условий, в которых существуют человек и белая крыса.

Сравнительная морфофункциональная характеристика печени белых крыс и человека при токсическом циррозе. При развитии токсического цирроза печени у белой крысы имели значение индивидуальные особенности и пол животных. Патологоанатомические признаки цирроза отмечались через 9 нед у

55,00% самцов, а через 12 нед – у 100,00% самцов и 30,00% самок. Через 16 нед у всех животных был выявлен цирроз. В печени самок по сравнению с самцами патологические изменения были выражены слабее и запаздывали на 3 нед. В печени самцов и самок на всех этапах эксперимента выявлены диффузный некроз гепатоцитов, очаговые кровоизлияния и серозный отек. Очаговые участки гидропической дистрофии гепатоцитов наблюдались только на первом этапе (3 нед). Темные гепатоциты через 3 нед в печени самцов и самок отсутствовали. С 6-й по 19-ю нед выявлялись их групповые скопления. У самок в отдельных участках срезов наблюдалось набухание ядер в клетках желчных протоков, а через 16 нед в 35,00% случаев выявлялась резко выраженная пролиферация желчных протоков. Подобная, но слабо выраженная патология отмечалась только в печени одного самца через 19 нед эксперимента. В печени животных отчетливо выявлены два пути развития цирроза: альтеративный и пролиферативный. На фоне сформированного моно-мультилобулярного цирроза развивался слабо выраженный очаговый интерстициальный гепатит.

У людей на всех стадиях АБП выявлялись диффузные очаги некроза гепатоцитов, дисконфлексация пластинчатого строения и мелкие очаги кровоизлияния. В отдельных препаратах на стадии ОАГ наблюдалось резкое кровенаполнение синусоидных капилляров. Темные гепатоциты отмечались редко. Циррозу печени предшествовал очаговый интерстициальный гепатит.

На всех этапах эксперимента у самцов и самок белой крысы выявлены полиморфизм гепатоцитов, мутное набухание цитоплазмы и нечеткие границы большинства клеток. Увеличение по сравнению с контролем средней площади гепатоцитов у самцов отмечалось до 9-й нед в 1,62 ($p=0,000$), а у самок – до 12-й нед эксперимента в 1,86 раза ($p=0,000$). На стадии цирроза данный показатель увеличивался у самцов в 1,50 ($p=0,000$), у самок в 1,75 раза ($p=0,000$) по сравнению с контролем. Выявлены половые различия на 3-й нед эксперимента ($p=0,002$).

У людей на стадии стеатоза и АЦП межклеточные границы большинства гепатоцитов были выражены хорошо, и средняя площадь клеток не отличалась от показателя контрольной группы. Вместе с тем, на стадии ОАГ у мужчин и женщин этот показатель снижался в 1,11 раза ($p=0,000$) по сравнению с контролем. Степень влияния циррозогенных факторов на данный показатель составляла у крыс 44,75% ($p=0,000$), а у людей – 5,36% ($p=0,000$).

Развитие цирроза у самцов и самок белой крысы сопровождалась полиморфизмом ядер гепатоцитов и достоверным увеличением их средней площади с преобладанием эухроматина и увеличением количества ядрышек (2-4). На стадии цирроза показатель увеличивался у самцов в 1,26 ($p=0,000$), у самок в 1,44 раза ($p=0,000$) по сравнению с контролем. Выявлены половые различия на 6-й нед ($p=0,002$).

У людей на всех стадиях АБП в ядрах гепатоцитов преимущественно выявлялся гетерохроматин и 1-2 ядрышка. Средняя площадь ядер была ниже контрольного показателя у мужчин и у женщин в 1,06 раза ($p=0,000$) только на стадии ОАГ. Степень влияния циррозогенных факторов на данный показатель составляла у крыс 43,22% ($p=0,000$), а у людей – 3,88% ($p=0,006$).

На фоне гипертрофии гепатоцитов и их ядер ЯЦО было снижено по сравнению с контролем в 1,20 раза ($p=0,000$): у самцов белой крысы на всех этапах эксперимента, а у самок – с 6-й по 19-ю нед эксперимента. Выявлены половые различия на 3-й и 9-й нед ($p=0,000$).

У мужчин и у женщин показатель ЯЦО был выше контрольного уровня в 1,07 раза ($p=0,026$) только на стадии АЦП. Степень влияния циррозогенных факторов на данный показатель составляла у крыс 16,38% ($p=0,000$), а у людей – 3,76% ($p=0,007$).

Подсчет среднего количества двуядерных гепатоцитов показал, что данный показатель у белой крысы был достоверно ниже уровня контрольного на протяжении всего эксперимента. Через 19 нед количество двуядерных гепатоцитов в печени самцов и самок было ниже контрольного уровня в 2,40 раза ($p=0,000$).

У мужчин и у женщин на стадии жирового стеатоза и АЦП количество двуядерных гепатоцитов было выше контрольного показателя в 1,14 ($p=0,000$) и 1,60 раза ($p=0,000$) соответственно. На стадии ОАГ данный показатель снижался в 1,20 раза ($p=0,000$) как у мужчин, так и у женщин. Степень влияния циррозогенных факторов на данный показатель составляла у крыс 58,08% ($p=0,000$), а у людей – 56,73% ($p=0,000$).

В печени крысы жировая дистрофия до стадии развития цирроза в одних случаях (у 45,00% самцов и 70,00% самок) локализовалась диффузно, а в других случаях (у 55,00% самцов и 30,00% самок) – по периферии долек. Через 3 нед эксперимента средняя площадь липидов в печени самцов составляла 14,22%, у самок 13,70%, а через 19 нед – 11,90% и 16,07% соответственно. Выявлены половые различия на 6-й ($p=0,000$), 9-й ($p=0,000$), 12-й ($p=0,000$), 16-й ($p=0,000$), 19-й ($p=0,000$) нед.

У мужчин и у женщин резко выраженное накопление в гепатоцитах липидов отмечалось на стадии стеатоза (16,00%) и АЦП (17,50%), причем выявлялось преимущественно очагово. Степень влияния циррозогенных факторов на данный показатель составляла у крыс 13,97% ($p=0,000$), а у людей – 49,90% ($p=0,000$).

На стадии цирроза средняя площадь соединительной ткани по сравнению с контролем у самцов белой крысы увеличивалась в 18,00 ($p=0,000$), у самок – в 24,00 раза ($p=0,000$), у мужчин – в 14,00 ($p=0,000$), а у женщин – в 13,00 раз ($p=0,000$). У крыс установлены половые различия на 9-й ($p=0,023$), 12-й и 19-й нед ($p=0,000$). У животных выявлялся преимущественно мостовидный, а у людей –

перигепатоцеллюлярный фиброз, который преобладал над централобулярным и портальным. Степень влияния циррозогенных факторов на данный показатель составляла у крыс 82,12% ($p=0,000$), а у людей – 78,66% ($p=0,000$).

В гепатоцитах белой крысы на протяжении всего эксперимента по сравнению с контролем выявлено достоверное снижение активности СДГ и ЦХО. На стадии цирроза средняя площадь активности СДГ снижалась у самцов и самок в 3,39 раза ($p=0,000$), а ЦХО – в 1,39 раза ($p=0,000$) по сравнению с контролем.

У мужчин и у женщин снижение активности СДГ наблюдалось на стадии ОАГ в 2,00 ($p=0,000$) и АЦП в 4,00 раза ($p=0,000$), а ЦХО – лишь на стадии АЦП в 1,62 раза ($p=0,000$) по сравнению со стадией стеатоза. Степень влияния циррозогенных факторов на данные показатели составляла у крыс 91,58% ($p=0,000$) и 19,06% ($p=0,000$), а у людей – 66,71% ($p=0,000$) и 49,98% ($p=0,000$) соответственно.

У белой крысы на всех этапах эксперимента выявлено достоверное снижение средней площади гликогена. На срезах в отдельных гепатоцитах гликоген вообще не выявлялся у обоих полов животных. Встречались клетки, где полисахарид был гомогенно рассеян по цитоплазме или разбросан мелкими глыбками. В одних клетках гранулы формировали неправильной формы конгломераты с четкими контурами фиолетовой окраски. В других клетках зерна гликогена сливались в гомогенную красную массу. Выявлена полярность расположения гликогена: полисахарид выявлялся на васкулярном полюсе гепатоцитов в непосредственной близости к синусоидному капилляру, т.е. цитоплазма клетки была заполнена гликогеном наполовину. Однако встречались и участки, где полярность нарушалась, т.е. гликоген локализовался в билиарном полюсе. Картина полярности расположения гликогена в клетках печени сохранялась на протяжении всего эксперимента. Наряду с дистрофией, некрозом гепатоцитов и перестройкой печеночных долек наблюдались признаки регенераторной активности. Она выражалась в утолщении наружной пограничной пластинки с высоким содержанием гликогена в гепатоцитах. Значительное снижение средней площади гликогена установлено через 3 нед эксперимента у самцов в 15,00 ($p=0,000$), у самок – в 14,22 раза ($p=0,000$) по сравнению с контролем. Выявлены половые различия на 6-й ($p=0,000$) и 16-й нед ($p=0,000$).

У мужчин и у женщин на стадии жирового стеатоза и ОАГ отмечено увеличение средней площади гликогена по сравнению с контролем в 1,34 раза ($p=0,000$) и 1,44 раза ($p=0,000$) соответственно, а на стадии АЦП – снижение в 1,19 раза ($p=0,000$). Степень влияния циррозогенных факторов на данный показатель составляла у крыс 84,92% ($p=0,000$) а у людей – 69,87% ($p=0,000$).

В печени как крысы, так и человека выявлена характерная динамика локализации и содержания липофусцина при развитии в ней цирротического процесса. В начальных сроках эксперимента пигмент локализовался вокруг

сосудов и в септах соединительной ткани, а к завершению эксперимента липофусцин появлялся и в гепатоцитах отдельных ложных долек. К концу эксперимента (19 нед) средняя площадь липофусцина увеличилась у самцов и самок в 4,16 раза ($p=0,000$) по сравнению с 3-й нед эксперимента, а у мужчин и женщин – в 2,50 раза ($p=0,000$) по сравнению со стадией стеатоза. Степень влияния циррозогенных факторов на данный показатель составляла у крыс 39,17% ($p=0,000$), а у людей – 38,33% ($p=0,000$).

Развитие токсического цирроза печени у крыс сопровождалось сложными изменениями биохимических показателей сыворотки крови: АЛТ, АСТ, ГГТП (резкие повышения на 3-й, 12-й и 19-й нед), ОБ (повышения на 3-й и 16-й нед, снижение на 12-й нед) и ОХС (повышение на 3-й и особенно на 16-й нед). У животных выявлены достоверные половые различия на 3-й и с 9-й по 19-ю нед по активности АЛТ ($p=0,005$), с 3-й по 19-ю нед – активности АСТ ($p=0,005$), ГГТП ($p=0,005$) и уровня ОБ ($p=0,005$), с 9-й по 19-ю нед – по уровню общего холестерина ($p=0,005$).

У людей на стадиях ОАГ и АЦП отмечено достоверное повышение уровней АЛТ, АСТ и ОБ, а ГГТП – на трех стадиях АБП. Выявлено снижение уровня ОХС на стадиях ОАГ и АЦП. Степень влияния циррозогенных факторов на уровни в сыворотке крови АЛТ у крыс составляла 96,05% ($p=0,000$), у людей 84,05% ($p=0,000$), АСТ – у крыс 98,98% ($p=0,000$), а у людей 87,89% ($p=0,000$), ГГТП – у крыс 77,16% ($p=0,000$), а у людей 88,89% ($p=0,000$), ОХС – у крыс 84,00% ($p=0,000$), у людей 39,87% ($p=0,000$) и ОБ – у крыс 99,12% ($p=0,000$), а у людей 83,28% ($p=0,000$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. В условиях нормы в печени половозрелой белой крысы и взрослого человека установлены видовые и половые гистологические различия. Средняя площадь гепатоцитов у самцов белой крысы составляет $498,86 \text{ мкм}^2$, а у самок – $422,09 \text{ мкм}^2$ ($p=0,002$). Средняя площадь ядер у самцов белой крысы – $77,02 \text{ мкм}^2$, у самок – $66,57 \text{ мкм}^2$ ($p=0,000$). Ядерно-цитоплазматическое отношение у самцов и самок равно 0,18 ($p=0,446$). Средняя площадь гепатоцитов у мужчин составляет $484,66 \text{ мкм}^2$, а у женщин – $495,40 \text{ мкм}^2$ ($p=0,707$). Средняя площадь ядер гепатоцитов равна у мужчин $58,58 \text{ мкм}^2$, у женщин – $61,20 \text{ мкм}^2$ ($p=0,623$). Показатель ядерно-цитоплазматического отношения как у мужчин, так и у женщин составляет 0,13 ($p=0,813$). Средняя площадь соединительной ткани в печени самцов и самок белой крысы составляет 1,00% ($p=0,360$), а у мужчин и женщин – 2,00% ($p=0,832$). Среднее количество двуядерных гепатоцитов у самцов белой крысы равно 12,17, у самок – 12,00 ($p=0,829$), а у мужчин и женщин – 17,50 ($p=0,832$). По ряду морфологических характеристик печень белой крысы и

человека имеет существенное сходство: неотчетливое контурирование долек из-за слабого развития соединительной ткани, наличие четкой выраженности наружной и внутренней пограничных пластинок, значительное количество темных и двуядерных клеток, отсутствие митотически делящихся гепатоцитов, липидов, липофусцина. Это позволяет широко использовать данных животных в качестве экспериментальных [5, 9, 26].

2. Развитие экспериментального цирроза у белых крыс происходит медленно и определяется у всех животных лишь через 16 недель после начала эксперимента. У самцов белой крысы цирроз выявляется на 3 недели раньше, чем у самок. Патологоанатомические и гистологические признаки цирроза отмечаются через 9 недель у 55,00% самцов, а через 12 недель – у 100,00% самцов и 30,00% самок. Морфология токсического поражения печени белых крыс в целом сходна с таковой у человека, имеет общие закономерности развития, характеризующиеся типовыми структурно-функциональными изменениями: некрозом гепатоцитов, выраженной жировой дистрофией, разрастанием соединительной ткани и образованием ложных долек. Через 3 недели эксперимента средняя площадь липидов в печени самцов составляет 14,22%, у самок 13,70% ($p=0,338$). На стадии алкогольного стеатоза у мужчин и женщин показатель равен 16,00% ($p=0,832$). На стадии цирроза средняя площадь соединительной ткани по сравнению с контролем у самцов белой крысы увеличивается в 18,00 раз ($p=0,000$), у самок – в 24,00 раза ($p=0,000$), у мужчин – в 14,00 ($p=0,000$), а у женщин – в 13,00 раз ($p=0,000$) [6, 8, 11, 12, 16, 19, 20, 22].

3. Вместе с тем, развитие цирроза печени у белой крысы и человека, сопровождаясь значительными патогистологическими и функциональными изменениями, имеет видовые и половые морфофункциональные различия. У крыс выявляется преимущественно мостовидный, а у людей – перигепатоцеллюлярный фиброз, который преобладает над централобулярным и портальным. Очаговый слабо выраженный интерстициальный гепатит у крыс появляется на фоне сформированного цирроза, а у людей циррозу печени предшествует интерстициальный гепатит. У самок крыс более выражен альтеративный путь развития цирроза, а у самцов – пролиферативный. Жировая дистрофия печени крыс до наступления цирротических изменений имеет диффузное распространение у 70,00% самок и лишь у 45,00% самцов. У людей жировая дистрофия локализуется в паренхиме преимущественно очагово (в центре и по периферии долек). Регенераторно-компенсаторные изменения в гепатоцитах при развитии цирроза печени у крыс протекают за счет гипертрофии одноядерных гепатоцитов, тогда как у людей – за счет увеличения количества двуядерных клеток. Средняя площадь гепатоцитов на стадии цирроза увеличивается у самцов белой крысы в 1,50 ($p=0,000$) и самок в 1,75 раза ($p=0,000$) по сравнению с контролем, а у людей не отличается от показателя контрольной группы.

Количество двуядерных гепатоцитов повышается у мужчин и у женщин в 1,60 раза ($p=0,000$), тогда как у самцов и самок белой крысы снижается в 2,40 раза ($p=0,000$) по сравнению с контролем [1, 2, 8, 10, 13, 14, 15, 17, 23, 26, 32].

4. При гистохимическом исследовании в печени крысы и человека в норме и на разных стадиях развития цирротического процесса также установлены половые и видовые морфологические и морфометрические различия: в локализации и количестве сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы; гликогена; липофусцина; липидов. В гепатоцитах крыс на протяжении всего эксперимента по сравнению с контролем наблюдается достоверное снижение активности сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы. На стадии цирроза средняя площадь активности сукцинатдегидрогеназы снижается у самцов и самок белой крысы в 3,39 раза ($p=0,000$), а цитохромоксидазы – в 1,39 раза ($p=0,000$) по сравнению с контролем. У людей происходит снижение активности сукцинатдегидрогеназы на стадии гепатита в 2,00 ($p=0,000$) и при циррозе в 4,00 раза ($p=0,000$), а цитохромоксидазы – лишь на стадии цирроза в 1,62 раза ($p=0,000$) по сравнению со стадией стеатоза. Максимальная активность сукцинатдегидрогеназы отмечается в гепатоцитах внутренней пограничной пластинки, вокруг сосудов и особенно в участках, прилегающих к собирательным венам – в печени крыс на всех этапах эксперимента, у людей – на всех стадиях токсического поражения печени. У животных на всех этапах эксперимента определяется достоверное снижение средней площади гликогена. У людей на стадии стеатоза и острого алкогольного гепатита отмечается увеличение данного показателя в 1,34 ($p=0,000$) и 1,44 раза ($p=0,000$) соответственно по сравнению с контролем. На стадии цирроза средняя площадь гликогена по сравнению с контролем снижается у самцов белой крысы в 4,28 ($p=0,000$), у самок – в 5,33 раза ($p=0,000$), а у мужчин и женщин – в 1,19 ($p=0,000$). К концу эксперимента (19 недель) средняя площадь липофусцина увеличивается у самцов и самок в 4,16 раза ($p=0,000$) по сравнению с 3-й неделей эксперимента, а у мужчин и женщин в – 2,50 раза ($p=0,000$) [3, 4, 5, 7, 9, 18, 21, 24, 25, 27, 29, 30, 31].

5. По результатам дисперсионного анализа в печени крыс установлено более выраженное влияние циррозогенных факторов на показатели средней площади гепатоцитов и их ядер, ядерно-цитоплазматического отношения, выраженность соединительной ткани, количество в гепатоцитах гликогена, активность сукцинатдегидрогеназы, на уровне в сыворотке крови аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, общего холестерина и общего билирубина. У людей более выраженная степень этого влияния определяется в отношении количества липидов, активности цитохромоксидазы и гаммаглутамилтранспептидазы. Результаты настоящего исследования позволяют сделать вывод, что строение печени белой крысы при развитии в ней цирротического процесса в целом, за некоторым исключением (механизма

развития цирроза, времени присоединения интерстициального гепатита, способа реализации компенсаторных изменений, некоторых гистохимических и биохимических показателей) во многом соответствует таковому у человека [10, 28, 33].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Метод гистохимического выявления липофусцина в печени (инструкция по применению регистрационный № 009-0215 от 07.05.2015, утвержденная Министерством здравоохранения Республики Беларусь, [34]) обладает высокой информативностью и простотой применения и может использоваться в повседневной работе врачей патологоанатомов с целью стандартизации оценки данного пигмента в материале гепатобиопсий; применение его улучшает дифференциальную гистохимическую диагностику смешанных дистрофий печени. Инструкция по применению внедрена в практическую деятельность УЗ «Витебское областное клиническое патологоанатомическое бюро» (акт внедрения от 27.05.2015).

2. Модификации методов гистохимического выявления в печени липидов и соединительной ткани позволяют получать стабильные результаты при изготовлении гистологических препаратов и рекомендуются для использования в научно-исследовательских лабораториях, в практике патологоанатомического бюро и судебно-медицинской экспертизы для улучшения морфологической диагностики заболеваний печени. Модифицированные методики более выгодны, чем ранее разработанные, в связи с простотой выполнения, доступностью реактивов и их более низкой стоимостью, и адаптированы к современным морфометрическим компьютерным программам анализа изображений. В настоящее время эти методы используются в практической деятельности УЗ «Витебское областное клиническое патологоанатомическое бюро» (акты внедрения от 09.09.2014).

3. Результаты исследования могут быть использованы при проведении медико-биологических научных исследований и разработке новых лекарственных препаратов.

4. Материалы исследования рекомендуется использовать в учебном процессе для студентов медицинских вузов при изучении пищеварительной системы на кафедрах медико-биологического и клинического профилей. Основные результаты и выводы выполненной работы используются при преподавании гистологии (акт внедрения от 01.09.15), патологической анатомии (акты внедрения от 03.06.2015, от 01.09.2015, от 12.01.2016), патологической физиологии (акт внедрения от 11.01.16) в УО «ВГМУ», УО «Витебская ордена “Знак Почета” государственная академия ветеринарной медицины», УО «Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко».

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ**Статьи в научных журналах**

1. Лебедева, Е. И. Половые биохимические различия сыворотки крови у белых крыс при экспериментальном циррозе / Е. И. Лебедева // Новости мед.-биол. наук. – 2014. – Т. 10, № 4. – С. 165–170.
2. Лебедева, Е. И. Динамика и половые различия биохимических изменений в сыворотке крови при экспериментальном токсическом циррозе / Е. И. Лебедева // Вестн. Витеб. гос. мед. ун-та. – 2014. – Т. 13, № 5. – С. 23–32.
3. Лебедева, Е. И. Качественные и количественные показатели содержания гликогена в печени крыс в динамике развития токсического цирроза / Е. И. Лебедева, О. Д. Мяделец // Журн. Гродн. гос. мед. ун-та. – 2015. – № 1. – С. 31–35.
4. Лебедева, Е. И. Гистологическая характеристика липофусцина в печени крыс при экспериментальном циррозе / Е. И. Лебедева // Изв. НАН Беларуси. Сер. мед. наук. – 2015. – № 2. – С. 41–46.
5. Лебедева, Е. И. Морфофункциональная характеристика печени белых крыс в норме / Е. И. Лебедева, О. Д. Мяделец, В. С. Прудников // Учен. зап. Витеб. ордена «Знак Почета» гос. акад. ветеринар. медицины. – 2015. – Т. 51, вып. 1, ч. 1. – С. 80–84.
6. Лебедева, Е. И. Экспериментальная модель токсического цирроза печени у белых крыс / Е. И. Лебедева, В. С. Прудников, О. Д. Мяделец // Учен. зап. Витеб. ордена «Знак Почета» гос. акад. ветеринар. медицины. – 2015. – Т. 51, вып. 1, ч. 1. – С. 84–88.
7. Лебедева, Е. И. Морфометрическая оценка содержания гликогена в гепатоцитах пациентов при различных стадиях алкогольного поражения печени / Е. И. Лебедева // Мед. журн. – 2015. – № 3. – С. 84–88.
8. Лебедева, Е. И. Динамика структурно-функциональных нарушений в печени крыс при экспериментальном циррозе / Е. И. Лебедева // Вестн. Витеб. гос. мед. ун-та. – 2015. – Т. 14, № 3. – С. 21–32.
9. Лебедева, Е. И. Морфофункциональная характеристика печени в норме и при алкогольном поражении / Е. И. Лебедева, О. Д. Мяделец // Изв. НАН Беларуси. Сер. мед. наук. – 2015. – № 3. – С. 75–87.
10. Лебедева, Е. И. Сравнительная морфофункциональная характеристика печени белых крыс и человека при алкогольном циррозе / Е. И. Лебедева, О. Д. Мяделец // Новости мед.-биол. наук. – 2015. – Т. 12, № 3. – С. 97–106.

Материалы научных конференций

11. Хроническая интоксикация животных, вызванная четыреххлористым углеродом, как модель для изучения морфофункционального состояния организма

/ Е. И. Лебедева, В. Н. Грушин, В. Н. Столярова, Е. Я. Рогозная // Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 65-й итог. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Витебск, 24–25 апр. 2013 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; редкол.: С. А. Сушков (пред.) [и др.]. – Витебск, 2013. – С. 251–253.

12. Моделирование хронической интоксикации у беспородных белых крыс для создания экспериментального цирроза / Е. И. Лебедева, В. Н. Грушин, Л. Л. Якименко, А. Л. Лях, О. Д. Мяделец // Актуальные проблемы медицины : материалы науч.-практ. конф., посвящ. 55-летию учреждения образования «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, 3–4 окт. 2013 г. : в 2 ч. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Гродн. гос. мед. ун-т ; [редкол.: В. А. Снежицкий (отв. ред.) и др.]. – Гродно, 2013. – Ч. 1. – С. 398–400.

13. Активность индикаторных ферментов беспородных белых крыс при токсическом циррозе / Е. И. Лебедева, А. К. Маевский, К. В. Пыко, О. И. Богдан, Е. А. Кузнецова // Студенческая медицинская наука XXI века : материалы XIII междунар. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Витебск, 14–15 нояб. 2013 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; редкол.: С. А. Сушков (пред.) [и др.]. – Витебск, 2013. – С. 133–134.

14. Биохимические показатели сыворотки крови беспородных белых крыс при моделировании токсического цирроза / Е. И. Лебедева, В. Н. Грушин, Е. Я. Рогозная, В. Н. Столярова // Студенческая медицинская наука XXI века : материалы XIII междунар. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Витебск, 14–15 нояб. 2013 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; редкол.: С. А. Сушков (пред.) [и др.]. – Витебск, 2013. – С. 135–136.

15. Лебедева, Е. И. Метаболические изменения в печени животных при остром токсическом поражении / Е. И. Лебедева, В. Н. Грушин // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 69-й науч. сес. сотр. ун-та, Витебск, 29–30 янв. 2014 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; редкол.: В. П. Дейкало (гл. ред.) [и др.]. – Витебск, 2014. – С. 219–220.

16. Оценка эмоциональной активности беспородных белых крыс в хендлинг-тесте при хронической интоксикации CCL4 и этанолом / Е. И. Лебедева, А. К. Маевский, К. В. Пыко, О. И. Богдан // Актуальные вопросы современной медицины и фармации: материалы 66-й итог. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Витебск, 17–18 апр. 2014 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; редкол.: С. А. Сушков (пред.) [и др.]. – Витебск, 2014. – С. 491–493.

17. Сезонные особенности липидного обмена у беспородных белых крыс / Е. И. Лебедева, В. Н. Грушин, В. В. Голубцов, Е. Я. Рогозная // Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 66-й итог. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Витебск, 17–18 апр. 2014 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; редкол.: С. А. Сушков (пред.) [и др.]. – Витебск, 2014. – С. 493–495.

18. Гистологическая оценка активности сукцинатдегидрогеназы гепатоцитов беспородных белых крыс при токсическом циррозе / Е. И. Лебедева, О. Д. Мяделец, В. В. Голубцов, П. П. Лакисов // Актуальные вопросы патологической анатомии в мирное и военное время : сб. науч. тр. Всерос. конф., посвящ. 155-летию каф. патол. анатомии Воен.-мед. акад. им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, 18 апр. 2014 г. – СПб. : ВМедА, 2014. – С. 133–136.

19. Лебедева, Е. И. Модификация метода окрашивания соединительной ткани в печени при ее фиброзах / Е. И. Лебедева // Инновации в медицине и фармации – 2014 : материалы дистанц. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Минск, 2014 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Бел. гос. мед. ун-т ; [под ред. А. В. Сикорского и др.]. – Минск, 2014. – С. 389–394.

20. Лебедева, Е. И. Модификация гистохимического метода окрашивания липидов в паренхиме печени / Е. И. Лебедева // Минский консилиум – 2014 : сб. материалов респ. конф. молодых ученых с междунар. участием, Минск, 10–11 июня 2014 г. / БелМАПО ; редкол.: Ю. Е. Демидчик [и др.]. – Минск, 2014. – С. 143–145.

21. Лебедева, Е. И. Признаки нарушения клеточной энергоспособности гепатоцитов при экспериментальном циррозе / Е. И. Лебедева // Наука вчера, сегодня, завтра : сб. ст. по материалам XIV междунар. заоч. науч.-практ. конф., Новосибирск, 7 июля 2014 г. – Новосибирск : СибАК, 2014. – С. 59–65.

22. Лебедева, Е. И. Клинико-патоморфологическая характеристика цирротического поражения печени белых крыс в эксперименте / Е. И. Лебедева // Макро-микроскопическая анатомия органов и систем в норме, эксперименте и патологии : материалы науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию дня рождения проф. Зои Измайловны Ибрагимовой / под ред. проф. А. К. Усовича. – Витебск, 2014. – С. 173–176.

23. Морфологические и биохимические особенности развития токсического цирроза печени у беспородных белых крыс / Е. И. Лебедева, О. Д. Мяделец, И. Н. Дубина, А. В. Шиленок, В. В. Голубцов // Морфология – медицинской науке и практике : сб. тр. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 85-летию со дня рождения заслуж. деят. науки Респ. Беларусь, лауреата Гос. премии Респ. Беларусь, проф., д-ра мед. наук П. И. Лобко, Минск, 23–24 окт. 2014 г. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Бел. гос. мед. ун-т, Бел. науч. о-во морфологов ; под ред. П. Г. Пивченко. – Минск : БГМУ, 2014. – С. 157–160.

24. Лебедева, Е. И. Гистохимия гликогена в печени крыс при экспериментальном циррозе / Е. И. Лебедева, О. Д. Мяделец // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 70-й науч. сес. сотр. ун-та, Витебск, 28–29 янв. 2015 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; редкол.: В. П. Дейкало (гл. ред.) [и др.]. – Витебск, 2015. – С. 198–199.

25. Лебедева, Е. И. Гистохимическое исследование гликогена в гепатоцитах пациентов при различных стадиях алкогольного поражения печени / Е. И. Лебедева, О. Д. Мяделец, В. В. Голубцов // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации : материалы 70-й науч. сес. сотр. ун-та, Витебск, 28–29 янв. 2015 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; редкол.: В. П. Дейкало (гл. ред.) [и др.]. – Витебск, 2015. – С. 199–200.

26. Лебедева, Е. И. Морфометрическая характеристика гепатоцитов при экспериментальном циррозе / Е. И. Лебедева // Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 67-й итог. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Витебск, 23–24 апр. 2015 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; редкол.: С. А. Сушков (пред.) [и др.]. – Витебск, 2015. – С. 730–732.

27. Морфологическая характеристика липофусцина в печени пациентов при алкогольном циррозе / Е. И. Лебедева, В. В. Голубцов, Е. Я. Рогозная, А. В. Гусев // Актуальные вопросы современной медицины и фармации : материалы 67-й итог. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Витебск, 23–24 апр. 2015 г. / Витеб. гос. мед. ун-т ; редкол.: С. А. Сушков (пред.) [и др.]. – Витебск, 2015. – С. 727–729.

28. Лебедева, Е. И. Сравнительная гистологическая характеристика печени белых крыс и человека при токсическом циррозе / Е. И. Лебедева, А. В. Гусев // Инновации в науке : сб. ст. по материалам I междунар. науч.-практ. конф., Новосибирск, 28 октября 2015 г. – Новосибирск : СибАК, 2015. – С. 105–114.

Тезисы докладов

29. Лебедева, Е. И. Содержание гликогена в гепатоцитах при токсическом циррозе / Е. И. Лебедева // Актуальные вопросы современной медицины : 81-я Всерос. Байкал. науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов с междунар. участием, посвящ. 130-летию со Дня рождения проф. С. И. Тимофеева, Иркутск, 21–23 апр. 2014 г. / Иркут. гос. мед. ун-т ; под ред. И. В. Малова, А. Д. Ботвинкина, А. Г. Макеева. – Иркутск, 2014. – С. 291–292.

30. Лебедева, Е. И. Гистохимические особенности гепатоцитов печени крыс при патологии / Е. И. Лебедева // Современные аспекты медицины и фармации – 2014 : тез. докл. 74-й Всеукр. науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов с междунар. участием, Запорожье, 15–16 мая 2014 г. / Запорож. гос. мед. ун-т ; редкол.: Ю. М. Колесник [и др.]. – Запорожье, 2014. – С. 22.

31. Лебедева, Е. И. Накопление липофусцина в печени при экспериментальном циррозе / Е. И. Лебедева // Актуальные вопросы морфологии : материалы симп., посвящ. 90-летию со Дня рождения выдающ. ученого проф. П. Ф. Степанова, Смоленск, 10 окт. 2014 г. / Смолен. гос. мед. акад. ; редкол.: И. В. Отвагин [и др.]. – Смоленск, 2014. – С. 46.

Статьи в других изданиях

32. Лебедева, Е. И. Морфофункциональные изменения в печени крыс при экспериментальном циррозе / Е. И. Лебедева, О. Д. Мяделец // Журн. анатомии и гистопатологии. – 2014. – Т. 3, № 3. – С. 51–58.

33. Лебедева, Е. И. Морфометрические показатели гепатоцитов белых крыс и человека при токсическом циррозе печени [Электронный ресурс] / Е. И. Лебедева // Universum: Медицина и фармакология. – 2015. – № 7/8 (19). – Режим доступа: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/2547>. – Дата доступа: 12.08.2015.

Инструкция по применению

34. Лебедева, Е. И. Метод гистохимического выявления липофусцина в печени : инструкция по применению № 009-0215 : утв. М-вом здравоохранения Респ. Беларусь 07.05.2015 / Е. И. Лебедева, О. Д. Мяделец, А. Л. Лях ; Витеб. гос. мед. ун-т. – Витебск, 2015. – 7 с.

РЭЗІЮМЭ**Лебедзева Алена Іванаўна****Супастаўляльная марфафункцыянальная характарыстыка печані белага пацука і чалавека ў норме і пры таксічным пашкоджанні**

Ключавыя словы: белы пацук, чалавек, печань, таксічнае пашкоджанне печані, чатыроххлорысты вуглярод, алкаголь, марфалогія, біяхімія.

Мэта даследавання: ўсталяваць марфафункцыянальныя асаблівасці печані белага пацука і чалавека ў норме і пры таксічным пашкоджанні.

Метады даследавання: агульнагісталагічныя, гістахімічныя, марфаметрычныя, біяхімічныя, статыстычныя.

Выкарыстаная апаратура: шалі Scout, аўтамат для гісталагічнай апрацоўкі тканкі, станцыя для заліўкі тканкі парафінам EC350, ратацыйны мікратом HM340E, мікратом-крыжстат HM525, лічбавая камера OLIMPUS XC30 на базе мікраскопа OLIMPUS BX51.

Вынікі даследавання і іх навізна: Упершыню ўстаноўлены параўнальныя марфаметрычныя і гісталагічныя асаблівасці печані белага пацука і чалавека ў норме і на розных стадыях эксперыментальнага таксічнага пашкоджання печані жывёл з улікам іх палавой прыналежнасці. Упершыню выкананы параўнальны гісталагічны і марфаметрычны аналіз зместу глікагену мітахандрыяльных ферментаў (сукцынатдэгідрагеназы і цытахрамаксідазы) і ліпафусцыну ў гепатацытах белага пацука і чалавека пры таксічным пашкоджанні ў часовым аспекце. Упершыню вывучана ступень уплыву таксічных фактараў на марфаметрычныя, гістахімічныя і біяхімічныя паказчыкі печані белага пацука і чалавека з ужываннем параметрычнага дысперсійнага аналізу. Унесены ўласныя змяненні ў гістахімічныя метады выяўлення ліпафусцыну нейтральных ліпідаў і злучальнай тканкі ў печані пры фіброзах.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: Атрыманыя звесткі і прапанаваныя мадыфікацыі метадаў могуць быць выкарыстаны для паляпшэння выкладання гісталогіі і паталагічнай анатоміі печані, марфалагічнай дыягностыкі яе захворванняў, ажыццяўлення скрынінгу лекавых прэпаратаў, а таксама для паглыблення сфарміраваных уяўленняў аб патогенезе і класіфікацыях фіброзу і цырозу печані ў чалавека і жывёл.

Вобласць прымянення: гісталагія, паталагічная анатомія, нармальнае і паталагічнае фізіялогія, фармакалогія, клінічная біяхімія.

РЕЗЮМЕ

Лебедева Елена Ивановна

Сравнительная морфофункциональная характеристика печени белой крысы и человека в норме и при токсическом поражении

Ключевые слова: белая крыса, человек, печень, токсическое поражение печени, четыреххлористый углерод, алкоголь, морфология, биохимия.

Цель исследования: установить морфофункциональные особенности печени у белой крысы и человека в норме и при ее токсическом поражении.

Методы исследования: общегистологические, гистохимические, морфометрические, биохимические, статистические.

Использованная аппаратура: весы Scout, автомат для гистологической обработки ткани, станция для заливки ткани парафином EC350, ротационный микротом HM340E, микротом-криостат HM525, цифровая камера OLYMPUS XC30 на базе микроскопа OLYMPUS BX51.

Результаты исследования и их новизна: Впервые установлены сравнительные морфометрические и гистологические особенности печени белой крысы и человека в норме и на различных стадиях экспериментального токсического поражения печени животных с учетом их половой принадлежности. Впервые выполнен сравнительный гистологический и морфометрический анализ содержания гликогена, митохондриальных ферментов (сукцинатдегидрогеназы и цитохромоксидазы) и липофусцина в гепатоцитах белой крысы и человека при токсическом поражении во временном аспекте. Впервые изучена степень влияния токсических факторов на морфометрические, гистохимические и биохимические показатели печени белой крысы и человека с применением параметрического дисперсионного анализа. Внесены собственные изменения в гистохимические методы выявления липофусцина, нейтральных липидов и соединительной ткани в печени при фиброзах.

Рекомендации по использованию: Полученные сведения и предложенные модификации методов могут быть использованы для улучшения преподавания гистологии и патогистологии печени, морфологической диагностики ее заболеваний, осуществления скрининга лекарственных препаратов, а также для углубления сложившихся представлений о патогенезе и классификациях фиброза и цирроза печени у человека и животных.

Область применения: гистология, патологическая анатомия, нормальная и патологическая физиология, фармакология, клиническая биохимия.

SUMMARY

Lebedeva Elena Ivanovna

A comparative morphofunctional characteristic of white rat and human liver if normal and in toxic injury

Key words: white rat, human being, liver, toxic injury of the liver, carbon tetrachloride, alcohol, morphology, biochemistry.

Aim of research: to establish morphofunctional features of white rats and human liver if normal and in its toxic injury.

Methods of research: general histological, histochemical, morphometric, biochemical, statistic.

Apparatus, equipment: scale Scout, automatic tissue processing machine, station for pouring tissues with paraffin EC350, rotary microtome HM340E, microtome-cryostat HM525, digital camera OLYMPUS XS30 on the base of microscope OLYMPUS BX51.

Results and novelty: Comparative morphometric and histological characteristics were given for white rat and human liver if normal and in different stages of experimental toxic injury of animal liver in terms of animal sex. For the first time the comparative histological morphometric analysis was made of glycogen, mitochondrial enzymes (succinate dehydrogenase and cytochromoxydase) and lipofuscin content in hepatocytes of white rats and human in toxic injury in time perspective. The degree of influence of toxic factors on morphometric, histochemical and biochemical indices of white rat and human liver was first studied using the parametric dispersive analysis. Personal changes are introduced into histochemical methods of lipofuscin, neutral lipids and connective tissue identification in the liver in fibrosis.

Recommendations for use: received information and proposed modifications of methods can be used for improvement of liver histology and pathology teaching, for morphological diagnostics of its injury, for screening drug preparations, and also to extend a fully developed knowledge of pathogenesis and classification of liver fibrosis and cirrhosis in humans and animals.

Field of application: histology, pathological anatomy and pathological physiology, pharmacology, clinical biochemistry.

Подписано в печать 06.05.2016 г. Формат 60×84/16.
Бумага типографическая №2. Гарнитура «Timens». Усл. печ. л. ____.
Уч.-изд. л. ____ . Тираж 60 экз. Заказ № ____.

Издатель и полиграфическое оформление: учреждение образования
«Витебский государственный медицинский университет».

ЛИ № 02330/453 от 30.12.2013.
Пр-т Фрунзе, 27, 210023, Витебск.