

**БУХОРО ДАВЛАТ ТИББИЁТ ИНСТИТУТИ
ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSC/PhD.04/30.12.2019.Tib.93.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

БУХОРО ДАВЛАТ ТИББИЁТ ИНСТИТУТИ

ОЧИЛОВ КОМИЛ РАХИМОВИЧ

**ЖИГАР ГЕПАТОЦИТЛАРИНИНГ МЕЪЁРДА ВА ТУРЛИ КИМЁВИЙ
ОМИЛЛАР ТАЪСИРИДА МОРФОМЕТРИК ВА
УЛТРАСТРУКТУРАВИЙ ТУЗИЛИШИНИНГ СОЛИШТИРМА
ХУСУСИЯТЛАРИ**

14.00.02 – Морфология

**ТИББИЁТ ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc) ДИССЕРТАЦИЯСИ
АВТОРЕФЕРАТИ**

БУХОРО – 2020

Докторлик (DSc) диссертацияси автореферати мундарижаси
Оглавление автореферата докторской (DSc) диссертации
Contents of the abstract of doctoral philosophy (DSc) dissertation

Очилов Комил Рахимович

Жигар гепатоцитларининг меъёрда ва турли кимёвий омиллар таъсирида морфометрик ва ультраструктуравий тузилишининг солиштирма хусусиятлари.....5

Очилов Комил Рахимович

Сравнительная характеристика морфометрического и ультраструктурного строения гепатоцитов печени в норме и при воздействии различных химических факторов.....37

Ochilov Komil Rakhimovich

Comparative characteristics of morphometric and ultrastructural structure of liver hepatocytes in normal and under the influence of various chemical factors71

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ
List of published works75

**БУХОРО ДАВЛАТ ТИББИЁТ ИНСТИТУТИ
ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSC/PhD.04/30.12.2019.Tib.93.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

БУХОРО ДАВЛАТ ТИББИЁТ ИНСТИТУТИ

ОЧИЛОВ КОМИЛ РАХИМОВИЧ

**ЖИГАР ГЕПАТОЦИТЛАРИНИНГ МЕЪЁРДА ВА ТУРЛИ КИМЁВИЙ
ОМИЛЛАР ТАЪСИРИДА МОРФОМЕТРИК ВА
УЛТРАСТРУКТУРАВИЙ ТУЗИЛИШИНИНГ СОЛИШТИРМА
ХУСУСИЯТЛАРИ**

14.00.02 – Морфология

**ТИББИЁТ ФАНЛАРИ ДОКТОРИ (DSc) ДИССЕРТАЦИЯСИ
АВТОРЕФЕРАТИ**

БУХОРО – 2020

Докторлик (DSc) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида B2020.2.DSc/Tib405 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Бухоро давлат тиббиёт институтида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус ва инглиз (резюме)) илмий кенгаш веб-саҳифасида (www.bsmi.uz) ва «Ziyonet» ахборот-таълим порталида (www.ziyonet.uz)

Илмий маслаҳатчи:

Тешаев Шухрат Жумаевич
тиббиёт фанлари доктори, профессор

Расмий оппонентлар:

Наумова Любовь Ивановна
(Россия Федерацияси)
тиббиёт фанлари доктори

Расулов Хамидулла Абдуллаевич
тиббиёт фанлари доктори

Рахматова Муқаддас Холтаевна
тиббиёт фанлари доктори

Етакчи ташкилот:

Павел Йозеф Шафарик Университети
(Словакия)

Диссертация химояси Бухоро давлат тиббиёт институти ҳузуридаги DSc/PhD.04/30.12.2019.Tib.93.01 рақамли Илмий кенгашнинг 2020 йил «__» _____ кунини соат ____ даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 200118, Бухоро шаҳри, Навоий шоҳ кўчаси, 1-уй. Тел./Факс: (+99865) 223-00-50; тел: (+99865) 223-17-53; e-mail: buhmi@mail.ru).

Диссертация билан Бухоро давлат тиббиёт институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (__ рақами билан рўйхатга олинган). (Манзил: 200118, Бухоро шаҳри, Навоий шоҳ кўчаси, 1-уй. Тел./Факс: (+99865) 223-00-50.

Диссертация автореферати 2020 йил «__» _____ кунини тарқатилди.
(2020 йил «__» _____ даги ____ рақамли реестр баённомаси)

А.Ш. Иноятов

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш раиси, тиббиёт фанлари доктори

Н.У. Нарзуллаев

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш илмий котиби, тиббиёт фанлари доктори

Н.А. Нуралиев

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш қошидаги илмий семинар раиси, тиббиёт фанлари доктори, профессор

КИРИШ (фан доктори (DSc) диссертациясининг аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурияти. Сўнги йилларда аҳоли саломатлигининг муҳофазаси дунё миқёсидаги долзарб муаммо ҳисобланади. Атроф муҳитни ифлослантирувчи моддаларнинг катта қисмини қишлоқ хўжалигида кенг қўлланиладиган пестицидлар ташкил қилади. «Жаҳон соғлиқни сақлаш ташкилотининг маълумотларига мувофиқ, ҳар йили 500 мингдан 2 млн гача одам пестицидлар билан заҳарланади, шулардан 40 минг ҳолати ўлим билан якунланади»¹. Заҳарли ҳисобланган фосфорорганик ва хлорорганик пестицидларнинг қўлланилиши чегараланган ёки умуман тақиқланган бўлиб, улар пиретроид, пиразол ва бошқа модда синфларининг ҳосилалари билан алмаштирилмоқда. Уларнинг устунлик томонлари куйидагилардан иборат: ҳайвон ва одам организми учун заҳарли таъсири нисбатан кам, оз миқдорларда ҳам ҳашаротларга таъсир қилиш самараси юқори. Ҳосилдорликни ошириш мақсадида пестицидларнинг дунё миқёсида қўлланилиши натижасида уларнинг одам ва ҳайвон организмига салбий таъсирини олдини олиш бўйича амалга ошириладиган чора тадбирлар муаммонинг долзарблигини ифодалайди.

Жаҳон миқёсида 1500 дан ортиқ пестицидлар хили рўйхатга олинган бўлиб, уларнинг қишлоқ хўжалигида қўлланилиши қушлар ва ҳайвонларнинг оммавий ўлимига олиб келмоқда, шунингдек «...оғир металллар билан тупроқнинг экзоген ифлосланиши кузатилиб, симоб бўйича меъёрий концентрация 10 марта, кадмий бўйича эса 3-8 марта кўпайиб кетмоқда...»². Ўзбекистон «...табiiй атроф муҳит Давлат мониторинги тадқиқотлари натижасига мувофиқ...»³, Амударё (Қорақалпоғистон Республикаси ва Хоразм вилояти) ва Зарафшон (Бухоро ва Навоий вилоятлари) дарёларининг этакларида ер ости сувларининг ифлосланиши ҳудудий характерга эга бўлиб, у қишлоқ хўжалиги омиллари таъсири остида шаклланади. Масалан, Бухоро вилоятининг ер ости сувлари Oз DSt 950 -2011 талабларига жавоб бермайди. Навоий вилоятида ер ости сувларининг ифлосланиши ҳудуднинг жанубий, марказий ва шимолий қисмларида қайд қилинган. Бу сувларнинг катта қисми умумий қаттиқлик, сульфатлар, нитратлар, аммоний билан минералланишнинг юқори қийматлари билан баҳоланади. Аммонийнинг юқори миқдори (руҳсат этилган концентрация (РЭК) >10) барча вилоятларда (Қорақалпоғистон Республикасидан ташқари, у ерда РЭК 1,6 марта кўп) кузатилади, айниқса бу кўрсаткич Самарқанд (РЭК 32), Жиззах (РЭК 32) ва Бухоро (РЭК 27) вилоятларида юқори эканлиги муҳим аҳамият касб этади.

Бугунги кунда мустақиллик даврида мамлакатимиз аҳолиси турли қатламлари орасида пестицидлар ва оғир металл тузларининг ҳайвонлар ва одам организмига токсик таъсирини олдини олиш мақсадида кўпгина муваффақиятларга эришилмоқда ва кенг қамровли ишлар амалга

¹ Европа бўйича соғлиқни сақлаш асосий кўрсаткичлари. ЖССТ. 2014 йил.

² Barnola F.V., Camejo G. Villegans R. DDT-nerve membrane inter-action and ionic channels. // Biophys.Soc.Program. and Abstrs 15th Ann.Meet., New Orleans, La., 2001 - New York, - P.51.

³ Табiiй атроф муҳит мониторинги: Ўзбекистон Республикасида 2002-2004 йиллар учун атроф муҳит ҳолати ва табiiй ресурсларнинг қўлланилиши ҳақида маъруза (табiiй атроф муҳит Давлат мониторинги дастури бўйича тадқиқотлар натижалари). - Тошкент, 2015. – 51 с.

оширилмоқда. 2017–2021 йилларда Ўзбекистон Республикасини ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши бўйича Ҳаракатлар стратегиясида «...аҳолига тиббий ва ижтимоий-тиббий хизмат кўрасатиш қулайлиги ҳамда сифатини ошириш, аҳоли ўртасида соғлом турмуш тарзини шакллантириш, тиббиёт муассасаларининг моддий-техник базасини мустаҳкамлашга йўналтирилган ҳолда соғлиқни сақлаш соҳасини, энг аввало, унинг дастлабки бўғини тез ва шошилишчи тиббий ёрдам тизимини янада ислоҳ қилиш, соғлом турмуш тарзини қўллаб-қувватлаш ва касалликлар уларнинг асоратларини олдини олиш ...»⁴ га қаратилган муҳим вазифалар белгиланган. Ушбу вазифалар пестицидлар ва оғир металтузларининг ҳайвонлар ва одам организмига токсик таъсирини олдини олиш, тиббий хизмат кўрсатиш даражасини янги босқичга кўтариш ва сифатли тиббий хизмат кўрсатишда замонавий технологияларни такомиллаштириш орқали, пестицидлар ва оғир метал тузларининг ҳайвонлар ва организмига токсик таъсирини, асоратларини олдини олиш ва ўлим кўрсаткичини камайтириш имконини беради.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2015 йил 29 декабрдаги ПФ 2460-сон «Аҳолининг санитар-эпидемиологик осойишталиги», Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ–4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони, Ўзбекистон Республикаси Президентининг 21 апрел 2017 йилдаги ПФ-5024-сон «Атроф муҳит ва экологияни давлат тизимида қўриқлашни такомиллаштириш», «Ўзбекистон аҳолисига 2017–2022 йилларда ихтисослаштирилган тиббий ёрдам кўрсатишни янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги Қарорларида ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга мазкур диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилган.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялари ривожланишининг VI. «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Диссертация мавзуси бўйича хорижий илмий-тадқиқотлар шарҳи. Пестицидларнинг одам организмига салбий таъсир самараси турлича бўлиб, бу муаммони ечиш учун дунё бўйича кўп сонли илмий тадқиқотлар ўтказилмоқда. Бу ишлар дунёнинг етакчи илмий марказлари ва олий ўқув юртларида, хусусан National Institute of Environmental Health Sciences, University of Maryland, New York University, University of Illinois at Chicago, Colorado State University, University of Rochester, University of California, Harvard University, Emory University (АҚШ), University of Milan (Италия), Universitat de València (Испания), University of Turku (Финляндия), Ghent University (Бельгия), Imperial College London (Буюк Британия), University of Edinburgh (Англия), University of Pavia (Италия), University of

⁴ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги ПФ–4947-сонли Фармони.

Murcia (Испания), Pukong National University (Корея), Punjab Agricultural University (Ҳиндистон), Россия фанлар академияси, Байкал миллий университетида (Россия Федерацияси) олиб борилаяпти.

Сўнгги йилларда, одам ва ҳайвон организмига пестицидлар таъсирининг салбий оқибатларини аниқлаш ва уни камайтириш бўйича олиб борилган тадқиқотлар ҳисобига, бир қатор муҳим илмий натижалар олинган: пестицидлар билан ўткир ва сурункали заҳарланиш тезлигини камайтириш учун замонавий усуллар яратилган (University of Murcia); 250 та пестицидлар қўлланилишининг хавфсизлиги аниқланди (Colorado State University, University of Rochester Medical Center, University of California, Harvard University, Sinai Medical Center, Department of Environment and Health, Rollins School of Public Health at Emory University, АҚШ); пестицидларнинг заҳарли таъсирини ўрганиш учун замонавий усуллар ишлаб чиқилган, организмда метаболик жараёнларнинг бузилиши аниқланган (Baikal Institute of Nature Management Siberian branch of the Russian Academy of sciences, Россия Федерацияси); атроф муҳитни ифлослантирувчи моддаларнинг хоссалари генетик механизмлар орқали очилган, у ёки бу эпигенетик хасталикларнинг келиб чиқиши асосида организмнинг турли касалликларга мойиллиги кўпайиши аниқланган (University of Milan, Италия, Universitat de València, Испания, University of Illinois at Chicago, АҚШ, University of Turku, Финляндия, Ghent University, Бельгия); кенг тарқалган хлор- ва фосфорорганик пестицидлар (ДДТ, хлорпирифос ва бошқалар) ҳамда пиразоллар, неоникотиноидлар, пиретроидлар ва карбаматлар синфига мансуб бўлган 100 дан ортиқ пестицидларнинг эндокрин зарар етказувчи таъсири топишган (Imperial College London, National Centre for Environmental Toxicology, Буюк Британия; Bundes institut für Risikobewertung, Federal Environment Agency, Германия; Centre National de la Recherche Scientifique, Centre de Biophysique Moléculaire, Франция). Эндокрин зарар етказувчи пестицидларнинг салбий хоссалари турли-тумандир ва улар ҳали етарлича ўрганилмаган. Ушбу муаммони ечиш масаласи билан National Institute of Environmental Health Sciences, National Exposure Research Laboratory, University of California, New York University (АҚШ); Institute of Environmental Medicine (Жанубий Корея); China Medical University, Shenyang (Хитой) каби дунёнинг етакчи илмий марказлари ва турли давлатларнинг университетлари шуғулланиб келмоқда. У ерда заҳарланиш самараси ривожланишининг айрим механизмлари аниқланди. Эндокрин зарар етказувчи пестицидлар ва улар метаболитларининг қолдиқ миқдорларини аниқлашга имкон берувчи токсикологик тестлар яратилган (National Centre for Environmental Toxicology, Буюк Британия); сув, тупроқ ва озиқ-овқат маҳсулотларида пестицидларнинг ҳаттоки ниҳоятда кичик концентрацияси ҳам одам ва ҳайвон организми учун жиддий хавф туғдириши кўрсатилган (Centre National de la Recherche Scientifique, Франция); иссиқ иқлим шароитида сув, тупроқ ва ҳавода пиретроид пестицидларни аниқлаш ва уларнинг салбий таъсир даражасини баҳолаш усуллари ишлаб чиқилган; пестицидларнинг она организми орқали наслга эндокрин зарар етказувчи таъсирининг айрим механизмлари

аниқланган (Санитария, гигиена ва касб касалликлари ИТИ, Тошкент тиббиёт академияси, Ўзбекистон).

Бироқ, оғир металллар ионлари ва бошқа ксенобиотиклар таъсирининг аниқ механизмлари молекуляр, ҳужайра ва мембрана даражасида охиригача ўрганилмаган. Шу билан бир қаторда кимёвий агентнинг заҳарли таъсир механизмини ўрганиш зарурати уларнинг таъсирини ҳужайра ва молекуляр даражада ўрганилишини тақозо этади.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Бир қатор заҳарли моддаларнинг биргаликда таъсир самарасини уларнинг алоҳида олинган ҳолдаги таъсири маълумотлари асосида баҳолаб бўлмайди. Ҳар битта вазият учун экспериментал тадқиқотлар талаб қилинади. Ҳозирги вақтда абиотик бирикмаларнинг ҳужайра ва унинг органеллалари даражасида таъсир механизмларини ўрганиш соҳасида жиддий ютуқларга эришилган. Баъзи пестицидлар ва оғир металлларнинг ионлари сут эмизувчиларнинг тўқималарида тўпланиши ва улар ҳужайранинг морфофункционал ҳолатини бузиши аниқланган (Иванов С.Д. ва ҳаммуал. 2003). Баъзи пестицидларнинг мембранатроп таъсири ўрганилди (Кадиков И.Р., 2015). Организмнинг оғир металллар ва турли пестицидлар билан заҳарланишда оксидланишли стресс (ОС) муҳим ўрин тутиши аниқланган (Wan L., 2012). Бунда эркин радикалларнинг шаклланиши липидларнинг пероксидланишини, ҳужайра Ca^{2+} гомеостазининг ва мембраналардаги тиол гуруҳлар редокс ҳолатининг ўзгаришини, шунингдек дезоксирибонуклеин кислотанинг (ДНК) турли модификацияларини келтириб чиқарган. Иссиқ қонли организмларга оғир металллар заҳарли таъсир механизмнинг асосини, ҳужайра метаболизмига барча салбий таъсирларнинг йиғиндиси ташкил қилиши мумкин (Кадиков И.Р., 2015).

Оғир металллар ва пестицидларнинг одам ва ҳайвон организмга биологик мембраналар даражасида таъсир қилиш механизмларига бағишланган кўп сонли ишлар мавжуд (Иванов С.Д. ва ҳаммуал., 2003; Кучерко Н.И., 2007; Кадиков И.Р., 2015). Физик-кимёвий биология нуқтаи назаридан, пестицидларнинг заҳарли таъсирини ўрганиш таҳлилларида биологик мембраналар ва ҳужайра органеллаларининг структуравий-функционал хоссаларига уларнинг модификацияловчи таъсири муҳим ўринлардан бирини эгаллайди (Корнева Е.А. ва ҳаммуал., 2005; Kondoh M. et al., 2002).

Ҳозирги вақтда баъзи пестицидларнинг мембранасимон эффекти аниқланди (Акиншина Н.Г. 2001). Организмнинг оғир металллар билан заҳарланишида оксидланишли стресс муҳим аҳамиятга эга эканлиги аниқланди (Dineley K.E., et al. 2003; Lewis C.P. et al., 2005). Оғир металллар ва пестицидларнинг одам ва ҳайвон организмга биологик мембраналар даражасида таъсир қилиш механизмларига бағишланган кўп сонли ишлар мавжуд (Ибрагимова К.М., Алматов К.Т., 2003; Куценко С.А. 2003; Исмаилова А.А., Яковенко К.В., 2006). Бироқ, оғир металллар ионлари ва бошқа ксенобиотиклар таъсирининг аниқ механизмлари молекуляр, ҳужайра ва мембрана даражасида охиригача ўрганилмаган. Аммо тажриба

маълумотлари тўпланган сари шу нарса аён бўлдики, замонавий гигиеник нормаланиш жиддий камчиликларга эга. Кимёвий моддаларнинг амалдаги концентрацияларини асослаш борасида равшанлик мавжуд эмас, биологик моделларда моддаларнинг заҳарлилигини асослаш ва бу маълумотларни одам учун тарқатиш борасидаги қонуний ҳуқуқ масалаларига ойдинлик киритиш зарур. Заҳарловчи моддаларнинг амалдаги концентрацияларини ўрнатиш, шунингдек уларнинг организмга заҳарли таъсир механизмини аниқлаш токсикология ва тиббиёт учун жуда муҳимдир. Ташқи муҳитнинг экологик ҳолатини баҳолаш сифатини ошириш организмга айрим моддаларнинг эмас, балки асосан реал шароитларда бўладигандек улар мажмуаси таъсирининг ўрганилишини талаб қилади. Бир қатор заҳарли моддаларнинг биргаликда таъсир эффектини уларнинг алоҳида олинган ҳолдаги таъсири маълумотлари асосида баҳолаб бўлмайди. Ҳар битта вазият учун экспериментал тадқиқотлар талаб қилинади.

Кўпчилик пестицидлар ва бошқа ифлослантирувчи моддаларнинг таъсири асосан токсикологик ва санитар-гигиеник нуқтаи назардан баҳоланади ва бу муайян соҳаларда уларни назорат қилишда ўзини оқлайди. Ҳозирги вақтда МДҲ давлатларида 6000 дан ортиқ турли гигиеник нормативлар амал қилади, улар атроф муҳитнинг ҳар хил объектлари учун турли ксенобиотикларнинг рухсат этилган максимал миқдорларини аниқлаштириб беради. Лекин экспериментал маълумотлар тўпланганда замонавий гигиена қатор камчиликларга эга эканлиги аён бўлди. Кимёвий моддаларнинг амалдаги концентрациялари учун асос аниқ эмас, биологик моделларда моддаларнинг заҳарлилигини аниқлаштириш ва бу маълумотлардан оқилона фойдаланиш зарурати бор. Заҳарли моддаларнинг амалдаги концентрацияси ҳамда уларнинг организмга заҳарли таъсир механизми токсикология ва тиббиёт учун жуда муҳимдир. Атроф муҳитнинг экологик ҳолати сифатини ошириш учун организмга уларнинг комплекс таъсирини ўрганилишини тақозо қилади, чунки бу айрим моддада эмас, балки реал шароитларда содир бўлади. Уларнинг ҳолатига бир қатор заҳарли моддаларнинг биргаликда таъсирини башорат қилиш машақатли ишдир. Ҳар бир аниқ вазият учун экспериментал тадқиқотлар талаб қилинади.

Диссертация мавзусининг диссертация бажарилаётган олий таълим муассасаси илмий-тадқиқот ишлари режалари билан мослиги. Диссертация тадқиқоти Бухоро давлат тиббиёт институтининг 05.2018.DSc/021-сон «Бухоро минтақасида патология олди ва патологик ҳолатларни эрта ташхислаш, даволаш ва профилактикасига янгича ёндашиш йўллари ишлаб чиқиш (2017–2021)» илмий-тадқиқот ишлари режаси доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади оғир металллар тузлари ва баъзи дефолиантларнинг алоҳида ва биргаликда таъсир қилинганда жигар гепатоцитларининг морфометрик ва ултраструктуравий параметрларини аниқлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

оғир металллар – кадмий ва кўрғошин тузлари ҳамда дефолиантлар – бутилкаптакс ва дроппларнинг алоҳида ва биргаликда таъсир қилинганда оқ зотсиз каламушлар жигарининг масса коэффицентини аниқлаш;

гепатоцитлар, жигарнинг ички томирлари ва ўт йўлларини меъерий ҳамда кадмий ва кўрғошин тузлари, шунингдек бутилкаптакс ва дропп дефолиантларини алоҳида ва биргаликда таъсир қилинганда таҳлил қилиш;

гепатоцитларнинг ултраструктурасини меъёрда ҳамда кадмий ва кўрғошин тузлари, шунингдек бутилкаптакс ва дропп дефолиантларини алоҳида ва биргаликда таъсир қилинганда баҳолаш;

жигар митохондриясининг функционал ҳолатига кадмий ва кўрғошин тузларининг алоҳида ва комбинацияланган таъсирини баҳолаш;

дефолиантлар бутилкаптакс ва дроппнинг оқ каламуш организмда тўқимали ва ҳужайрали тақсимланишини текшириш;

оқ зотсиз каламуш тўқималари ҳужайраларида митохондрия мембраналарининг ўтказувчанлигига ва энергия алмашинувига дефолиантлар таъсирини *in situ* ва *in vitro* шароитларида комплекс текширишдан иборат.

Тадқиқот объекти оқ каламуш жигари, гепатоцитлар ва мембрана структуралари (митохондрия) ҳисобланади.

Тадқиқот предмети организмнинг пестицидлар ва оғир металл тузлари билан турли даражада заҳарланиш шароитида гепатоцитлар ва ҳужайра структураларнинг морфофункционал ҳолатлари ҳисобланади.

Тадқиқот усуллари. Мазкур диссертация ишида морфологик, биокимёвий, биофизикавий ва ҳужайра биологияси, вариацион статистиканинг замонавий усулларида фойдаланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилigi қуйидагилардан иборат:

илк бор кадмий ва кўрғошин тузлари ҳамда бутилкаптакс ва дропп дефолиантларининг алоҳида ва биргаликда таъсири остида оқ зотсиз каламушлар жигарининг масса коэффицентини кўрсаткичлари аниқланган;

илк бор оғир металл тузлари ва пестицидларнинг алоҳида ва биргаликда таъсиридан оқ каламушларнинг заҳарланишида жигар тўқимасининг ва митохондрия функционал ҳолатининг ултраструктуравий ўзгаришлари аниқланган;

токсикантлар таъсир қилинганда жигарнинг энг заиф қисми – бу митохондрия ва эндоплазматик тўр эканлиги исботланган;

нишонланган дефолиантлар (бутилкаптакс, дропп) жигар гепатоцитларининг митохондрия ва эндоплазматик тўрида энг кўп тўпланиши аниқланган;

лаборатор ҳайвонларга бир вақтнинг ўзида кўрғошин ва кадмий препаратлари гепатоцитларнинг ултраструктуравий ўзгаришлари ва митохондриянинг функционал силжиш ҳолати даражасида киритилганда бу токсикантларнинг ўзаро синергизми амалга ошиб, кўрғошин тузларининг таъсирига хос бўлган аломатлар устунлик қилиши аниқланган;

дефолиантлар ва кўрғошин тузлари биргаликда киритилганда гепатоцитлар ултраструктураси ўзгаришининг ўзига хослиги аниқланган;

дефолиантларнинг токсикологик характеристикалари билан каламуш жигари митохондрия мембраналарининг ўтказувчанлигига уларнинг *in vitro* шароитида таъсири орасидаги ўзаро боғлиқлиги исботланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари:

Жигар тўқимаси ва ҳужайра ичидаги мембранали ҳосилаларнинг структуравий-функционал ҳолатига заҳарли бирикмалар таъсирларининг бир-бирига боғлиқ ҳолда кучайиши амалий аҳамиятга эгадир. Органик ва ноорганик бирикмаларнинг организмга биргаликда таъсири уларнинг алоҳида таъсирига нисбатан янада кучлироқ намоён бўлади, чунки улар бир-бирининг таъсирини кучайтириш қобилятига эга. Одамга бир нечта пестицидларнинг бир пайтда таъсир қилиши ҳар бир токсикант учун рухсат этилган концентрацияларга риоя қилиниши ҳужайралар структураси ва функциясининг жиддий бузилишига ва бунинг оқибатида турли хилдаги патологиялар, касб касалликлари ва бошқаларнинг пайдо бўлишига олиб келади. Одамлар ва ҳайвонларнинг саноат токсинлари ва заҳарли химикатлар билан алоқада бўлиш шароитида санитар ва гигиеник нормаларни ишлаб чиқиш стратегияси яратилганда мазкур ишда олинган маълумотларни ҳисобга олиш мақсадга мувофиқ.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги тадқиқотда қўлланилган ёндошув ва усуллар, назарий маълумотларнинг олинган натижалар билан мос келиши, олиб борилган текширувларнинг услубий жиҳатдан тўғрилиги, беморлар сонининг етарли эканлиги, статистик текшириш усуллари ёрдамида ишлов берилганлиги, шунингдек, тадқиқот натижаларининг халқаро ҳамда маҳаллий маълумотлари билан таққосланганлиги, чиқарилган хулоса ҳамда олинган натижаларнинг ваколатли тузилмалар томонидан тасдиқланганлиги билан асосланади.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги тадқиқотда қўлланилган ёндошув ва усуллар, назарий маълумотларнинг олинган натижалар билан мос келиши, олиб борилган текширувларнинг услубий жиҳатдан тўғрилиги, беморлар сонининг етарли эканлиги, статистик текшириш усуллари ёрдамида ишлов берилганлиги, шунингдек, тадқиқот натижаларининг халқаро ҳамда маҳаллий маълумотлари билан таққосланганлиги, чиқарилган хулоса ҳамда олинган натижаларнинг ваколатли тузилмалар томонидан тасдиқланганлиги билан асосланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.

Ишнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат: оғир металлларнинг тузлари, пестицидларнинг алоҳида ва биргаликда таъсиридан заҳарланган лаборатор ҳайвонларда жигар тўқимаси ва митохондриянинг функционал ҳолатидаги ультраструктуравий ўзгаришлар биринчи марта текширилган. Токсикантлар таъсир қилинганда жигарнинг заиф ультраструктураси митохондрия ва эндоплазматик тўр эканлиги аниқланган. Ҳайвонларга бир вақтнинг ўзида қўрғошин ва кадмий препаратлари гепатоцитларнинг ультраструктуравий ўзгаришлари ва митохондриянинг функционал силжиш ҳолати даражасида киритилганда бу токсикантларнинг ўзаро синергизми

амалга ошиб, кўрғошин тузларининг таъсирига хос бўлган аломатлар устунлик қилиши аниқланган.

Ишнинг амалий аҳамияти қуйидагилардан иборат: органик ва ноорганик бирикмаларнинг биргаликдаги таъсири, уларнинг алоҳида киритилишига нисбатан янада кучлироқ таъсир кўрсатади, чунки улар бир-бирининг таъсирини кучайтириш қобилиятига эга. Таъкидлаш жоизки, одамнинг бир нечта пестицидлар билан алоқа қилиш шароитида РЭЖга риоя қилиниши хужайралар структураси ва функциясининг бузилишига ҳамда паталогик ҳолатнинг юзага келишига олиб келади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Диссертация материаллари бўйича оғир металл тузлари ва баъзи дефолиантларнинг алоҳида ва биргаликда таъсир қилинганда жигар гепатоцитларининг морфометрик ва ультраструктуравий параметрларини аниқлаш хусусиятлари бўйича олинган натижалар асосида:

«Оғир металл тузлари билан организм захарланганда жигар хужайраларининг ультраструктуравий тузилишини ўрганиш усули» мавзусидаги услубий тавсиянома тасдиқланган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2020 йил 09 июндаги №8н-р/139-сон маълумотномаси). Мазкур услубий тавсиянома оғир металл тузлари билан организм захарланганда жигар хужайраларининг ультраструктуравий тузилишини ўрганиш имконини берган;

«Дропп ва кўрғошин тузлари биргаликда ҳайвонларда қўлланилганда гепатоцитларнинг структура ҳолатини ўрганиш усули» мавзусидаги услубий тавсиянома тасдиқланган (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2020 йил 09 июндаги №8н-р/140-сон маълумотномаси). Мазкур услубий тавсиянома дропп ва кўрғошин тузлари биргаликда ҳайвонларда қўлланилганда гепатоцитларнинг структура ҳолатини ўрганиш имконини берган;

«Пестицидлар таъсирида хужайра структураларининг морфофункционал ҳолатини ўрганиш усуллари» (Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 2020 йил 09 июндаги №8н-р/141-сон маълумотномаси). Мазкур услубий тавсиянома пестицидлар ва оғир металллар тузлари билан захарланиш ташхисининг ўз вақтида қўйилиши эрта профилактик даволашни ва саломатликнинг тикланишини ўтказиш оптимал вариантини танлаш имконини берган;

Диссертация натижалари Суд-тиббиёт экспертизаси Бухоро вилояти бюросининг суд-кимёвий лабораториясига ва Бухоро вилоят паталогик анатомия бюросида жорий қилинган (Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлигининг 9.06.2020 даги №8н-д/62 -сонли маълумотномаси). Суд-тиббиёт экспертизасини ўтказиш жараёнида юпқа қаватли газ-суюқлик хроматографияси ёрдамида биологик объектларда пестицидлар ва оғир металллар тузларининг оз миқдорларини топиш бўйича яратилган ишланмалар текшириладиган организмда мавжуд паталогик ўзгаришлар сабабини аниқлашга имкон беради, бу эса жабрланувчига ўз вақтида ёрдам кўрсатиш ва даволаш мақсадида одамларнинг захарланиши бўйича қўйилган

ташхисларнинг самарадорлигини ошириш, ёки одам ўлим сабабларини аниқлаш имкониятини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 2 та халқаро ва 6 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилиниши. Диссертация мавзуси бўйича жами 31 та илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг докторлик диссертациялари асосий илмий натижаларини чоп этиш тавсия этилган илмий нашрларда 11 та мақола, жумладан, 7 таси республика ва 4 таси хорижий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, бешта боб, хулоса, амалий тавсиялар ва фойдаланган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертациянинг ҳажми 182 бетни ташкил этади.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Диссертациянинг «Кириш» қисмида тадқиқотнинг долзарблиги ва зарурати асослаб берилган, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари, объекти ва предмети тавсифланган, мавзунинг Республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, илмий янгилиги ва амалий натижалар берилган, тадқиқот натижаларининг ветеринария ва суд-кимёвий лабораторияларда жорий қилинганлиги, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши тўғрисида маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Жигар гепатоцитларининг меъёрда ва турли омиллар таъсирида морфометрик ўзгаришлари**» деб номланган биринчи бобида экотоксикантларнинг тирик организмга таъсири, пестицидларнинг иссиқ қонлилар организмга таъсири, оғир металлларнинг организмга ҳужайра даражасида таъсири, кўрғошин ва кадмийнинг одам ва ҳайвон организмга таъсири тўғрисида республикамиз ва чет эл олимларининг илмий-тадқиқот ишларининг қисқача тавсифи келтирилди. Адабиётлар таҳлили пестицидлар ва оғир металллар тузларининг тирик организм ҳужайра структурасига таъсири ҳақидаги маълумотлар тўлиқ эмаслигини кўрсатди.

Диссертациянинг «**Материаллар ва тадқиқот усуллари**» деб номланган иккинчи бобида ишда қўлланилган асосий усуллар ва объектлар тавсифланган. Бир қатор токсикантларнинг жигар ҳужайралари параметрларига ва гепатоцитлар компонентларининг ультраструктурасига таъсири аниқлаш мақсадида тажрибалар массаси 120 г дан кам бўлмаган 144 та оқ каламушларда ўтказилган. Қўлланилган заҳарли моддаларга боғлиқ ҳолда барча ҳайвонлар олтига асосий гуруҳларга ажратилган.

Тажрибалар Жаҳон Тиббиёт Ассоциациясининг 1964 йилда қабул қилинган ҳамда 1975, 1983, 1989, 1996, 2000, 2002, 2004, 2008, 2013 йилларда тўлдирилган Хельсинки Декларациясининг қоидаларига асосланган ҳолда бажарилган.

Каламушлар препаратлар ёки уларнинг аралашмаси киритилгандан кейин 3 - 24 соат ўтгач оний декапитация усули билан жонсизлантирилган.

I гуруҳ – назорат гуруҳи. Назорат гуруҳи каламушларига металл зонд ёрдамида 0,5 мл ҳажмда дистилланган сув ошқозон ичига киритилган.

II гуруҳ (оғир металллар тузларининг таъсири):

1) CdSO_4 эритмаси, концентрацияси 5 мг/мл, дозаси 0,4 мл/100 г ҳайвон массасига, бир маротаба, ошқозон ичига;

2) $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ эритмаси, концентрацияси 10 мг/мл, дозаси 0,6 мл/100 г ҳайвон массасига, бир маротаба, ошқозон ичига.

III гуруҳ (пестицидлар таъсири):

1) бутилкаптакс, дозаси 0,13 г/100 г ҳайвон массасига, бир маротаба, ошқозон ичига;

2) дропп, дозаси 0,4 г/100 г ҳайвон массасига, бир маротаба, ошқозон ичига.

IV гуруҳ. Қўрғошин ва кадмий тузлари биргаликда – тузлар эритмасининг концентрацияси 2 мг/мл дан ва аралашма дозаси 0,5 мл/100 г ҳайвон массасига, бир маротаба, ошқозон ичига юборилган.

V гуруҳ. Дропп ва қўрғошин тузи биргаликда киритилади;

VI гуруҳ. Бутилкаптакс ва қўрғошин тузи биргаликда ошқозон ичига юборилган.

Жонсизлантирилгандан олдин каламушлар массаси ўлчанган, сўнгра қорин бўшлиғи очилгандан кейин, жигар ажратиб олиниб ва массаси ўлчанган.

Оптик микроскопия учун ўнг бўлакдан олинган жигар тўқимасининг майда бўлакчалари формалиннинг 10%-ли нейтрал эритмасида фиксация қилинди. Тўқимани ювиш ва концентрацияси ортиб боровчи спиртларда дегидратлашдан кейин, бўлакчалар устига парафин қуйилган ва 5-7 мкм қалинликдаги қирқимлар тайёрланиб, улар гематоксилин ва эозин билан бўялди. Қирқимлар морфометрик усулда текширилди, DN-107T/ NLCD-307B (Novel, Хитой) окуляр-микрометрда гепатоцитларнинг ўлчамлари, гепатоцит ядроларининг ҳажми, марказий веналарнинг диаметри, артериола, венула ва триада соҳасидаги ўт йўлининг диаметрлари, шунингдек ўт йўли эпителиал ҳужайраларининг катталиклари ҳам ўлчанган. Икки ядроли гепатоцитларнинг бир ядроли гепатоцитларга нисбати ўрганилди.

Трансмиссион электрон микроскопия (ТЭМ) учун ўлчами 1,5×1,5 мм дан катта бўлмаган жигар тўқимаси 2 соат давомида фосфатли буфер (рН 7,4) сақлаган глутар альдегидининг 2,5%-ли эритмасида, кейинчалик 1 соат давомида осмат кислотанинг 1%-ли эритмасида ушлаб турилди. Концентрацияси ортиб боровчи ацетон эритмаларида тўқима сувсизлантирилгандан кейин, у эпон-аралдит аралашмасига солинган.

Ярим юпка (1 мкм) ва ультраюпка қирқимлар «ЛКВ-III» ва «Ultracut» ультрамикротомларда тайёрланди. Ярим юпка қирқимлар метилен кўки – фуксин ва пиронин G аралашмаси билан бўялган.

Ультраюпка қирқимлар қўрғошин уранилацетат ёрдамида бўялган («Ultra-stainer» микропроцессори), «HitachiH-600» электрон трансмиссион

микроскопида кўздан кечирилди ва суратга олинди (В.Вохидов номидаги Республика хирургия маркази патоморфология лабораториясида бажарилган, лаборатория раҳбари т.ф.д., проф. И.М. Байбеков).

Митохондриялар (Мх) дифференциал центрифугалаш усули билан ажратиб олинди. Каламушлар (120-150 г массали) декапитация билан сўйилди, жигари ажратиб олинди ҳамда 250 мМ сахароза ва 10 мМ трис-хлорид (рН 7,4) сақлаган муздек ажралма муҳитли (АМ) стаканга солинди. Совутилгандан ва массаси аниқлангандан кейин жигар олинди, фильтр қоғоз орасида қуритилди ва зангламас пўлатдан тайёрланган махсус пресс орқали эзиб чиқарилди. Олинган бўтқасимон масса шиша гомогенизаторда тефлонли даста билан АМнинг 7-8 каррали ҳажмида гомогенланган.

Гомогенатни 6000 g да 15 дақиқа давомида центрифугалаш орқали ядролар ва бузилмаган ҳужайралар чўктирилди. Супернатантни 5000 g да 15 дақиқа давомида центрифугалаш орқали митохондрия фракцияси олинди. Митохондрия чўкмаси АМда (бошланғич тўқима массасига нисбатан 4-5 карра кўп ҳажмида) қайта суспензияланди ва 5500 g 15 дақиқа давомида центрифугаланди. Митохондриянинг якуний чўкмаси 1 мл суспензияда 70-100 мг митохондрия оксилини сақлаши ҳисобидан АМга ресуспензияланди. Тажриба давомида (4-5 соат) олинган суспензия муздек ваннада сақланган.

Изоляцияланган митохондрияларнинг алмашилиш жараёнларини характерловчи асосий параметрлардан бири ОФ ҳолати ҳисобланади. Уни ўлчаш учун кўпинча полярографик усул қўлланилади. ОФ билан бир қаторда полярографик экспериментларда Ca^{2+} транспорти ҳам ўрганилган.

Субстратларнинг митохондриялар билан оксидланиш тезлиги LP-7 полярографи (ЧССР да ишлаб чиқилган, 1989 й.) ёрдамида 26 °C да ўлчанди, бунда Кларк туридаги платина электродидан фойдаланилган. Тинч ҳолат (4) ва АДФ томонидан фаоллаштирилган нафас олишнинг (3) метаболик ҳолатларидаги нафас олиш тезлиги, шунингдек нафас назорати ва АДФ/О нисбати Чанс усули бўйича аниқланди, бунда 26 °C да 0,5 мл СИда кислороднинг миқдори 250 мкг-атом кислород сақлаши кўзда тутилади. СИ таркиби: 120 мМ KCl, 5 мМ сукцинат ёки 5 мМ дан глутамат/малат аралашмаси, 10 мМ трис-HCl, 1 мМ калий фосфат, рН 7,1. Оксидланиш субстрати сифатида сукцинат қўлланилганда муҳитга ротенон киритилади, у сукцинатнинг оксидланишини ингибирлайдиган оксалоацетатнинг тўпланишига йўл бермайди. Айланиб турувчи очик электродли полярографда ўтказилган тажрибаларда 1 мл ҳажмли СИ 100 мМ сахароза, 75 мМ KCl, 10 мМ трис-хлорид (рН 7,4) ва 2,5 мМ KH_2PO_4 сақлайди. Ячейкадаги митохондрия оксилининг хона ҳароратидаги миқдори – 3-4 мг/мл.

Жигар митохондрияларида Ca^{2+} транспорти потенциометрик усулда аниқланди, бунда ЗМ-Са маркали (Тбилприбор) Ca^{2+} -селектив электродидан фойдаланилди. Ca^{2+} концентрацияларининг кичик силжишларини қайд этиш қурилмаси магнит аралаштиргичнинг штативига ўрнатилган электрод блок ва КСП-4 ўзиёзар асбобга уланган рН-метрдан иборат. Ўлчашлар оптик шишадан тайёрланган кюветаларда эритмани узлуксиз аралаштирган ҳолда ўтказилди. Ҳажми 4 мл бўлган СИ 125 мМ сахароза, 60 мМ KCl, 10 мМ

сукцинат ва 5 мМ трис-хлорид (рН 7,4) сақлайди. Митохондриялар муҳитга 2-3 мг оксил/мл ҳисобидан киритилди, Ca^{2+} – қўшимча кўринишида киритилди, CaCl_2 концентрацияси 200 ммоль, система CaCl_2 нинг стандарт эритмаси билан калибрланган.

Каламушлар жигари гомогенатининг эндоген ПОЛ 145 мМ КСl, 25 мМ трис-НСl (рН 7,4) сақлаган СИда индуцирланди. Оксилнинг миқдори 1 мл СИга 20 мг ни ташкил қилди (100мМ КСl, 10 мМ трис, рН 7,0). 0,2 мл 70% ли ТХУК ҳосил бўлгандан кейин реакция тўхтатилди, чўкма 15 дақиқа давомида центрифугалаш (6000-8000 айл/дақ) билан ажратилган.

Чўкма устидаги 2 мл суюқлик 1 мл 0,7%-ли ТБК билан аралаштирилди. Аралашма 100 °С да 15 дақиқа давомида қиздирилди. Рангнинг интенсивлиги спектрофотометрик усул билан 535 нм да ўлчанди. Моляр экстинкция коэффициентининг жадвал қийматларидан фойдаланган ҳолда ҳосил бўлган ТБК – фаол маҳсулотларнинг миқдори аниқланган.

Митохондрия оксилининг миқдори биурет усули бўйича колориметрик аниқланган. Митохондрия мембраналарини парчалаш учун 0,1 мл Мх суспензиясига 0,9 мл 2 н. КОН+10 мг дезоксихолат қўшилган. Митохондрия оксили тўлиқ эригандан кейин 4 мл биурет реактиви қўшилди ва хона ҳароратида 30 дақиқага қолдирилди. Бир вақтнинг ўзида назорат эритмаси (1 мл 2 н КОН+10 мг дезоксихолат + 4 мл биурет реактиви) тайёрланди, рангнинг интенсивлиги 540 нм да 10 мм қалинликдаги кюветаларда ўлчанган. Қорамол зардоби альбумини стандартларини калориметрлашдан олинган калибровка эгри чизиғи бўйича Мх оксилининг миқдори аниқланган.

Ишда оғир металлларнинг тузлари (Степаниченко Н.Н, Мирзо Улуғбек номидаги ЎЗМУ табиий бирикмалар кимёси лабораторияси) ва дефолиантлар (Галустьян Г.Г, УР ФА Ўсимлик моддалари кимёси институти) қўлланилган.

Олинган тадқиқот натижалари Microsoft Office Excel – 2007 дастурлар пакети ёрдамида «Pentium IV» процессор базасида ЭХМда статистик қайта ишланди, бунда дастурлар пакетига ўрнатилган статистик қайта ишлаш функциясидан фойдаланилган.

Диссертациянинг «**Оғир металлларнинг тузлари ва пестицидлар таъсир қилинганда жигар структуравий элементларининг морфометрик параметрлари**» деб номланган учинчи бобида жигар ҳужайраларининг ташкилий структурасига қўрғошин ва кадмий тузлари ионларининг алоҳида ва биргаликда таъсирини ўрганиш натижалари келтирилди. Оғир металлларнинг тузлари организмга киритилганда жигар ҳужайраларининг ультраструктуравий тузилиши, қўрғошин ва кадмий тузлари биргаликда киритилганда уларнинг жигар морфологиясига 3 ва 24 соатдан кейин таъсири тўғрисида маълумотлар берилди.

Назорат гуруҳи каламушларининг массаси 120 г дан 139,5 г гача бўлиб, ўртача – $127,6 \pm 3,45$ г.ни ташкил этди.

Назорат гуруҳи каламушлари жигарининг массаси 7,2 г дан 9,1 г гача бўлиб, ўртача – $8,45 \pm 0,34$ г.ни, масса коэффициенти ўртача – $6,62 \pm 0,18\%$ ни ташкил қилади.

Жигар ташқи томонидан бириктирувчи тўқимали капсула билан қопланган, у жигар паренхимасига кириб, бўлакчали ва тўсинсимон структурани ҳосил қилади. Бўлакчали тузилиш фақат портал трактлар соҳасида яхши кўринади. Одам сингари оқ каламушларда ҳам жигар бўлакчалари бир-биридан фибриоз парда билан ажратилмаган. Портал трактлар орасидан ўтказиладиган шартли чизиқлар бўлакчалар чегараси бўлиб хизмат қилади. Бўлакчалар чегараси бўйлаб нисбатан тўғри қаторлар кўринишида жигар ҳужайралари, гепатоцитлар жойлашган ҳолда, икки қаторли радиал жигар пластинкаларини шакллантиради. Гепатоцитларнинг кўндаланг ўлчами (гепатоцит ядросининг марказидан унга яқин жойлашган бошқа гепатоцит ядросигача бўлган масофа) 20,0 дан 27,0 мкм оралиғида, ўртача $24,3 \pm 0,43$ мкм ни ташкил этади. Улар кўп бурчакли шаклга эга бўлиб, чегаралари яхши кўринади. Гепатоцитларнинг цитоплазмаси амфифил, грануляр характерга эга. Перинуклеар зонада синусоидал кутб томонидан хира бўялган цитоплазма фонида донадор эндоплазматик тўрға тегишли майда донали базофил таначалар тўдаси жойлашган.

Гепатоцитлар цитоплазмаси кўндаланг кесимининг ўртача юзаси 400,0 мкм² дан 729,0 мкм² гача бўлиб, ўртача – $590,5 \pm 20,4$ мкм² ни ташкил этади.

Гепатоцитлар ядролари марказлашган, битта ёки иккита яхши кўринадиган ядрочаларни сақлайди. Ядрочаларнинг ўлчами ва шакли турлича бўлиб, кўпинча айланасимон шаклга эга. Ядролар асосан жигар ҳужайраларининг марказида жойлашади, айрим ҳолда ҳужайра чеккасига сурилган бўлиши ҳам мумкин. Гепатоцитларнинг катта қисми бир ядроли бўлиб, айрим ҳолларда икки ядроли гепатоцитлар ҳам учраб туради. Перипортал гепатоцитлар бир оз кичик ўлчамларга эга бўлиб, уларнинг ядролари гиперхром, цитоплазмасининг базофиллиги каттароқ. Икки ядроли гепатоцитларнинг миқдори 100 та гепатоцитга нисбатан 8-20 ни, ўртача $15,2 \pm 0,74$ ни ташкил этади.

Назорат гуруҳи каламушларида гепатоцитлар ядроси кесимининг юзаси 100,0 мкм² дан 141,0 мкм² гача бўлган оралиқда бўлади, ўртача – $118,6 \pm 2,54$ мкм².

Жигар бўлакчаларининг марказида марказий веналар жойлашган бўлиб, улар жигар веналарининг бошланғич звеноси ҳисобланади. Марказий веналарнинг диаметри 48,0 дан 76,0 мкм гача бўлиб, ўртача – $60,55 \pm 1,74$ мкм. ни ташкил этади. Бўлакчалар атрофида портал трактлар жамланади, уларнинг таркибига артерия, вена ва ўт йўли киради.

Бўлакчалараро веналарнинг диаметри 21,0 дан 35,0 мкм гача, ўртача – $29,12 \pm 0,868$ мкм ни ташкил қилади. Бу веналар диаметри бўйича кичикроқ бўлган кўпгина тармоқларга бўлинади, яқинда улар венулаларга ўтади, синусоид тўрсимон капиллярларга ажралиб, жигар бўлакчасининг ҳажмдор лабиринтсимон микротомирли оқимни ҳосил қилади. Бўлакчалараро артериялар тармоқларининг катта қисмини ўт йўллари билан қон билан таъминлашга бериб, перибилиар боғламларнинг шаклланишида иштирок этади, уларнинг зичлиги ўт йўллари билан катталаниши билан ортиб боради.

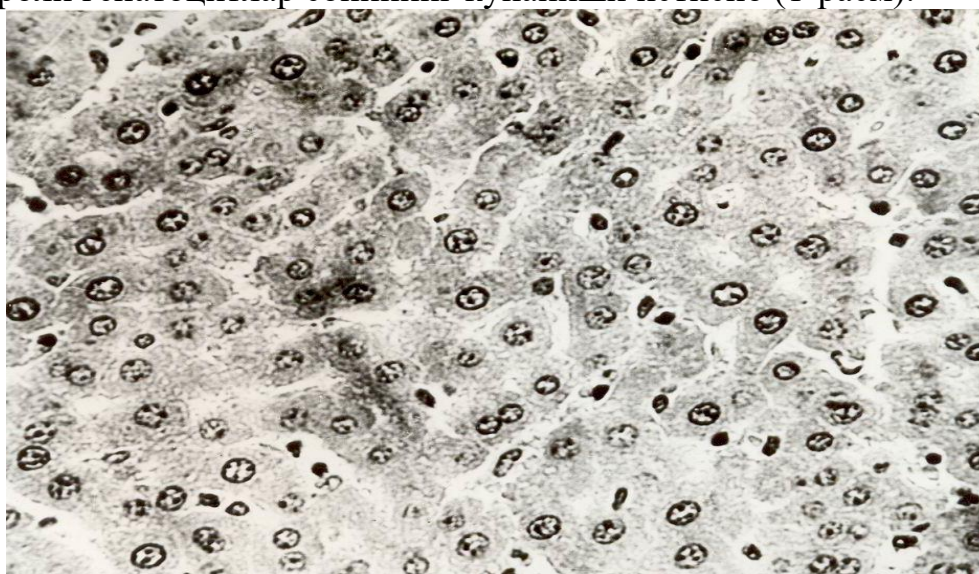
Бўлакчалараро артерияларнинг диаметри 9,8 дан 16,0 мкм гача бўлиб, ўртача – $13,9 \pm 0,38$ мкм ни ташкил қилади. Бўлакчалараро артерияларнинг диаметри бўлакчалараро веналарнинг диаметридан 2 ва ундан ортиқ марта кичик. Терминал артерияларнинг камроқ қисми артериолаларга ўтган ҳолда, синусоидал томирларнинг шаклланишида иштирок қилади.

Кадмий ҳимояловчи гальваник қопламаларни ишлаб чиқаришда, электротехника ва атом саноатида қўлланилади. Баъзи мамлакатларда кадмий тузлари ветеринарияда антигельминт ва антисептик препаратлар сифатида ишлатилади.

Кадмий билан заҳарланиш асосан саноат чиқиндилари билан боғлиқ; кадмий сақловчи предметларнинг (батареялар, қотишмалар, бўёқлар) тўпланиши ичимлик суви ва ҳавони ифлослантиради. Шунингдек фосфорли ўғитлар ва гўнг ҳам ўзида кадмий сақлайди. Сигарета тутуни – кадмий билан заҳарланишнинг асосий манбаидир: 20 сигарета донасида 15-18 мкг кадмий мавжуд бўлади. Кадмийли интоксикациянинг яна бир манбаи – бу денгиз маҳсулотларини истеъмол қилишдир.

Оқ каламуш ошқозонига кадмий тузи киритилгандан кейин 3 соат ўтгач жигар тўқимасининг морфологияси бўйича ўтказилган текширишлар натижасида унинг умумий структураси дискомплексацияга учрамагани аниқланди.

Шундай қилиб, лаборатор ҳайвонларга кадмий тузлари киритилганда жигардаги гепатоцитлар, улар ядроларининг морфометрик параметрларида, шунингдек жигарнинг ички томирлари, айниқса синусоид капиллярлар диаметрларининг ўлчамларида сезиларли ўзгаришлар содир бўлмайди. Экспериментнинг бошланғич муддатида (3 соат ўтгач) жигарнинг структуравий элементларида морфометрик параметрларнинг ўзгариши кечки муддатга (24 соат ўтгач) нисбатан яққолроқ намоён бўлади, бундан фақат икки ядроли гепатоцитлар сонининг кўпайиши истисно (1-расм).



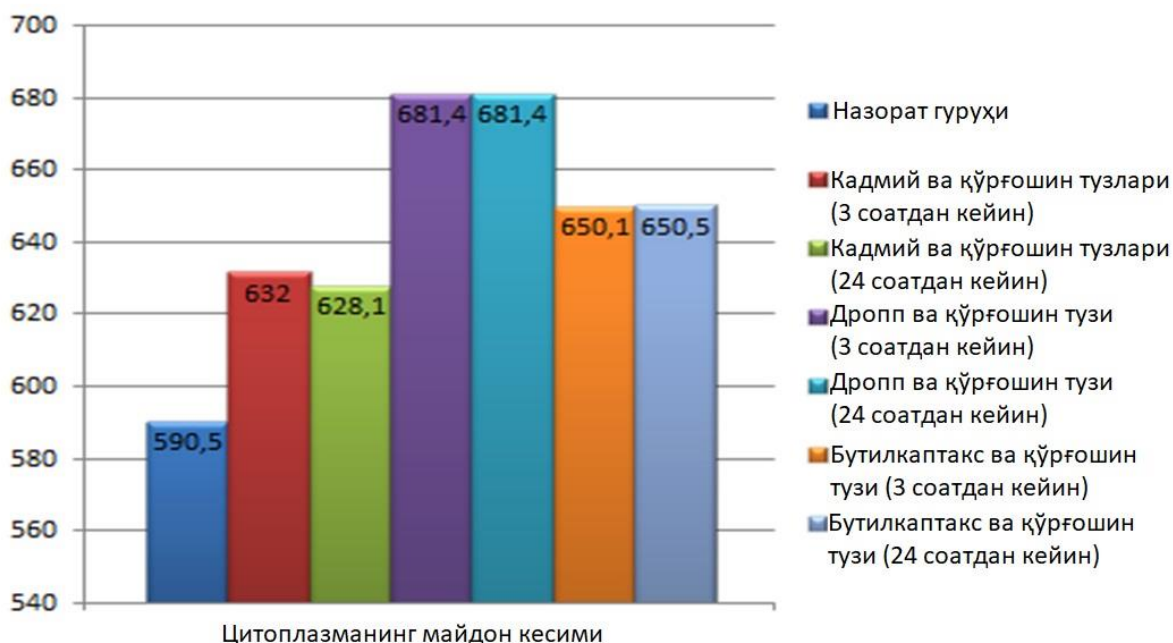
1-расм. Кадмий тузи киритилгандан кейин 24 соат ўтгач каламуш жигарининг тўқимаси. Жигар устунчаларининг архитектураси нормаллашган. Гематоксилин - эозин билан бўялган. Оптик микроскопия, ок.7хоб.40.

Қўрғошин тузларининг жигарга таъсири ўрганилганда қизиқарли маълумотлар олинди.

Қўрғошин тузлари таъсиридан каламушларнинг массаси ўзгармайди. Жигар массасининг ортиши ($8,90 \pm 0,65$ г) ҳисобига масса коэффиенти ўртача $6,95 \pm 0,18\%$ ни ташкил қилади (таъсир қилингандан кейин 3 ва 24 соат ўтгач бир хил кўрсаткич). Бу шундан далолат берадики, захарли таъсири 24 соатдан кейин камаядиган кадмий тузларидан фарқли равишда, қўрғошин тузларининг захарли таъсири 24 соатдан кейин деярли камаймайди. Қўрғошин тузларининг таъсири остида гепатоцитлар ўлчами катталашади. Ядро-цитоплазматик индекс ортади (2-расм).

Қўрғошин тузлари таъсир қилинганда, 3 соатдан кейин марказий веналар, паллалараро веналарнинг диаметри катталашади, шунингдек паллалараро артериялар ва ўт йўллари диаметрининг ҳам камроқ ортиши кузатилади. Синусоид капилларлар асосан бўлакчаларнинг маркази томон радиал йўналган бўлиб, у ерда марказий веналарга қуйилади. Синусоид капиллярлар тўлақонлилик ҳолатида бўлади.

Қўрғошин киритилгандан кейин 24 соат ўтгач ёруғлик оптикиси ёрдамида гепатоцитларнинг морфологик ҳолатининг ўзгариши қайд қилинди, уни структуранинг нормалланиши сифатида баҳолаш мумкин. Синусоид капиллярлар, марказий веналар ва портал трактлар томирларининг тўлақонлилик даражаси ўртача қийматда камайди. Бундай ички мембрана структурасининг нормалланиши натижасида цитоплазмада гликоген зарраларининг миқдори бир қадар кўпаяди.



2-расм. Гепатоцитлар цитоплазмаси кўндаланг юзасининг нормада ҳамда оғир металлларнинг тузлари ва дефолитлар биргаликда таъсир қилинганда морфометрик характеристикаси

Тадқиқотлар шуни кўрсатдики, ҳайвонларга кўрғошин тузлари киритилганда кадмий тузлари киритилганга таъсирга нисбатан жигар морфометрик ўзгаришларга кўпроқ учрайди. Гепатоцитлар ва улар ядроларининг морфометрик параметрлари, шунингдек жигарнинг ички томирлари, айниқса синусоид гемокапиллярлар диаметрининг ўлчамлари ўзгаради.

Тадқиқот натижаларига кўра, ҳайвонларга бутилкаптакс киритилганда оғир металллар тузларининг таъсирга нисбатан жигар морфометрик ўзгаришларга кўпроқ учрайди. Гепатоцитлар ва улар ядроларининг морфометрик параметрлари, шунингдек жигарнинг ички томирлари, айниқса синусоид гемокапиллярлар диаметрининг ўлчамлари ўзгаради. Тажрибанинг эрта муддатларида (3 соатдан кейин) жигар структуравий элементларининг морфометрик параметрлари тажрибанинг кечки муддатларига (бутилкаптакс киритилгандан кейин 24 соат ўтгач) нисбатан камроқ ўзгаришларга учрайди.

Ҳайвонларга дропп дефолианти киритилгандан кейин 3 соат ўтгач жигар бўлакчаларининг устунсимон тузилиши ўзгаришсиз сақланиб қолинади. Гепатоцитлар ядролари тахминан бир хил ўлчамда, ўртача гипохром. Синусоид капиллярлар оралиқларининг ўртача кенгайиши кузатилади. Пересинусоид бўшлиқларни кўз билан кўриб бўлмайди. Синусоид капиллярлар элементлари орасида гиперхром ядролари катталашган юлдузсимон ретикулоэндотелиоцитларни кўриш мумкин. Гепатоцитлар цитоплазмаси бир оз тиниқлашган, майда донадорликка эга.

Жигар хужайралари бир оз кичрайган, хужайралараро оралиқлар кенгайган ва шишган. Гепатоцитлар зарарланиш даражасига нисбатан кошкор кўринишга эга: бир хилларида донадорлик намоён бўлса, бошқаларида цитоплазманинг яққол тиниқлашганлиги кузатилади.

Ўт йўллари кенгайган, оралиқларида майин микротукчалар мавжуд. Цитоплазмада липофусцин ва ўт компонентларининг тўпланиши кузатилади. Улардан бири цитоплазмада диффузияланади, иккинчиси билиар зонада йиғилади. Ҳайвонларга дропп дефолианти киритилганда уч соатлик вақт оралиғига нисбатан бир сутка ўтгандан кейин гепатоцитларнинг структуравий ҳолатида кенг ва яққол ўзгаришлар кузатилиб, улар энергетик биосинтетик ва секретор жараёнларнинг жиддий бузилиши ҳақида далолат беради.

Кадмий тузлари ва кўрғошин тузлари биргаликда киритилганда жигарнинг масса коэффициенти кўрғошинли заҳарланишдагидек бир хил бўлади ($7,1 \pm 0,35\%$ ва $6,95 \pm 0,35\%$). Шунингдек гепатоцитлар ўлчами ва юзаси, ядроларнинг ўлчами ва ядро-цитоплазматик индекс ҳам бир хил ўзгаради.

Фақат кўрғошин тузлари киритилган вазиятдан фарқли равишда, кадмий ва кўрғошин тузлари биргаликда киритилганда жигар томирларида (3 соатдан кейин) ўзгаришлар яққолроқ намоён бўлади.

Марказий веналар, синусоид капиллярлар ва портал трактларнинг сезиларли даражада ўзгариши аниқланади. Цитоплазмада яққол вакуол

дистрофия кузатилади, жигар хужайраларининг ядролари ўлчамлари ва хромотроплиги бўйича полиморф.

Иккита токсикантнинг (кадмий ва қўрғошин тузлари) биргаликда киритилиши жигарнинг структуравий компонентларига зарар етказиш бўйича бир-бирини ўзаро кучайтириш эффектига олиб келади. Шунга биноан, ҳайвонларга дроп ва қўрғошин тузини биргаликда киритиш мисолида ушбу ўзаро таъсирланишни ўрганиш бўйича тадқиқотлар муайян қизиқишларни келтириб чиқаради. Ҳайвонларга дроп ва қўрғошин тузи биргаликда киритилгандан кейин 3 соат ўтгач жигар паренхимиясининг устунсимон тузилишида ўзгаришлар кузатилмайди. Портал трактларнинг томирлари, синусоид капиллярлар ҳамда марказий веналарда ўртача тўлақонлилиқ кўринади. Ўтказилган тажрибаларда намоён бўлган ўзига хос аломатлардан бири портал трактларда, баъзан паренхима сингиб кетган заиф лимфоид хужайра инфилтратларнинг пайдо бўлиши ҳисобланади.

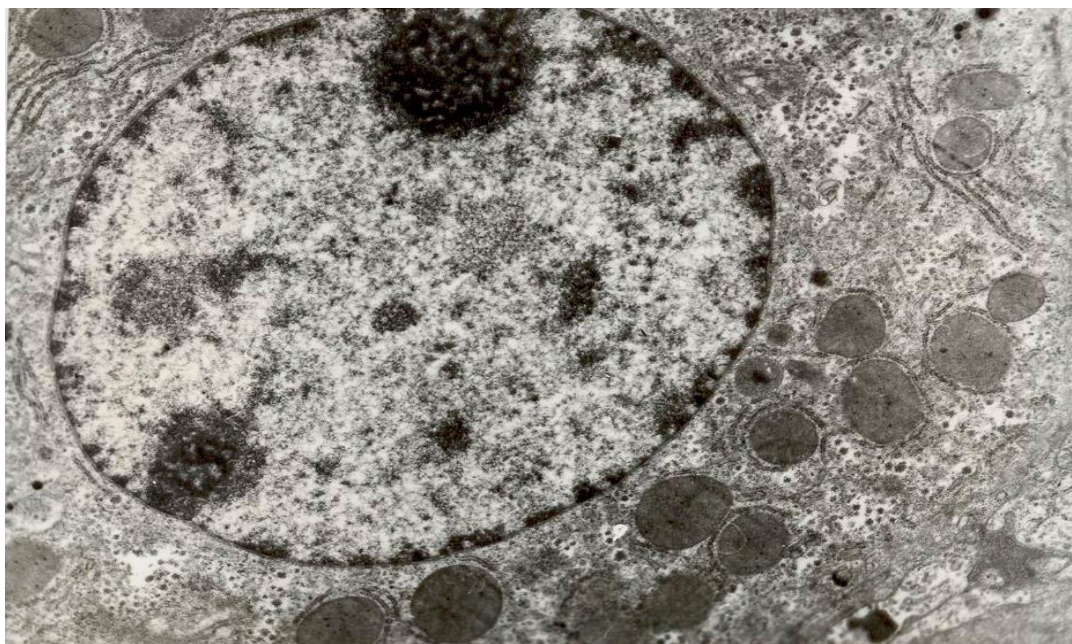
Бутилкаптакс ва қўрғошин тузи биргаликда киритилгандан кейин 3 соат ўтгач жигарнинг масса коэффиценти $7,25 \pm 0,35\%$ ни, 24 соатдан ўтгандан кейин $7,16 \pm 0,35\%$ ни ташкил қилди, солиштириш учун бутилкаптакснинг ўзи киритилганда – $7,15 \pm 0,35\%$ (24 соатдан кейин), қўрғошин тузи киритилганда – $7,1 \pm 0,35\%$ (3 соатдан кейин) га тенг.

Диссертациянинг «Гепатоцитлар ва хужайра структураларининг нормада ва оғир металлар тузлари таъсирида ультраструктуравий тузилиши» деб номланган тўртинчи бобида гепатоцитлар ва хужайра структураларининг нормада ва оғир металлар тузлари таъсирида ультраструктуравий тузилиши ҳақида маълумотлар келтирилган.

Организмга кадмий тузи киритилгандан кейин бир сутка ўтгач гепатоцитларда ички хужайралар ультраструктурасининг юқори тикланиш суръатининг аломатлари кўринади. Қўрғошин билан заҳарланишнинг эрта муддатларида энг заиф ультраструктура – бу митохондриялар ҳисобланади. Улар миқдор жиҳатдан камаяди ва турли даражадаги деструкцияга учрайди.

Бу тузларнинг биргаликда киритилиши ўзаро таъсирланиш, яъни бир-бирини кучайтириш эффектига олиб келган ҳолда, гепатоцитлар ультраструктурасида, айниқса биоэнергетик ва биосинтетик функциялар учун жавобгар бўлган компонентларда патологик ўзгаришларни келтириб чиқаради. Ядро хроматини зичлигининг пасайиши билан бир қаторда, унинг конденсирланган компонентининг камайиши кузатилади (3-расм).

Митохондрияларнинг ўлчамлари катталашади, уларнинг матрикси шаффофлашади, крист миқдори сезиларли кўпаяди. Силлиқ ва грануляр эндоплазматик тўр кесимининг узунлиги қисқаради, цитоплазмада гликоген доналари деярли қолмайди.



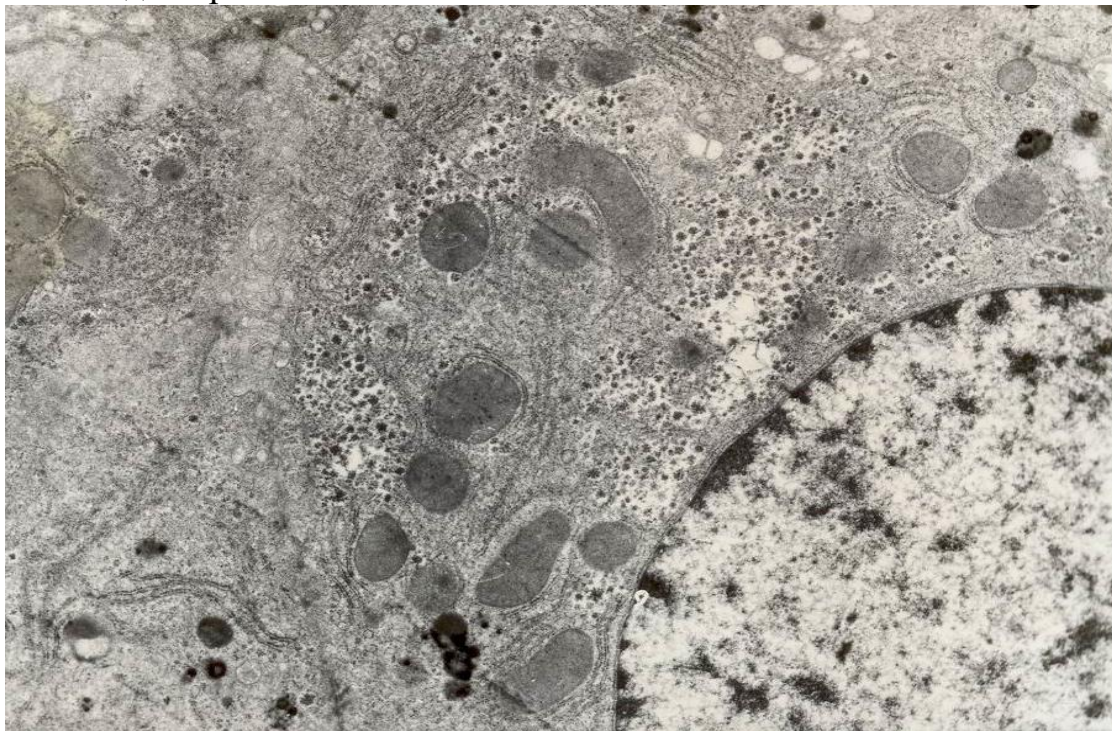
3-расм. Кўрғошин тузи киритилгандан кейин 24 соат ўтгач каламуш жигарининг тўқимаси. Иккита яхши кўринадиган ядрочаларни сақлаган гепатоцит. Митохондриялар шишган. ТЭМ. 12 000 марта катталаштирилган

Диссертациянинг «Пестицидлар таъсирида ва оғир металлларнинг тузлари биргаликда киритилганда гепатоцитлар ва ҳужайра тузилишининг ултраструктуралари» деб номланган бешинчи бобида каламушларга бутилкаптакс киритилгандан кейин 3 соат ўтгач жигар структурасида патологик ўзгаришлар кўп сезилмади ва фақатгина синусоид капиллярлар ва марказий веналарнинг ўртача тўлақонлигида намоён бўлди. Асосан марказий бўлакчаларда, гепатоцитлар цитоплазмасида майда вакуоляр дистрофия кузатилди. Шунингдек ҳайвонларнинг бу гуруҳида жигар ретикулоэндотелиал системаси элементларининг фаолланиши ҳам намоён бўлди.

Гепатоцитлар ядроларида, ҳайвонларга бутилкаптакс киритилгандан кейин 3 соат ўтгач, хроматин миқдори камайган ҳолда, унинг маргинацияланиш ўртача тенденцияси юзага келади. Перинуклеар бўшлиқ ва ядро ғоваклари тор, ядро ўлчамлари ўзгариб туради. Патологик характерга эга бўлган асосий ўзгаришлар митохондрия ва эндоплазматик тўрда кузатилади. Митохондриялар турли ўлчамларда эди, уларда ўлчамлари бир оз катталашган таёқчасимон шаклларнинг миқдори кўпроқ бўлади. Матрикс сезиларли даражада шаффофлашади, митохондриянинг айрим қисмларида кристаллар, шу билан бирга гиперплазия ҳолатида цитоплазмада гликоген доналари кўринадди (4-расм).

Грануляр эндоплазматик тўр, бутилкаптакс киритилгандан кейин 3 соат ўтгач, миқдорий жиҳатдан анча камайди, қисман парчаланаяди, мембраналар билан ассоциатланган рибос миқдорининг камайиши кузатилади. Силлиқ эндоплазматик тўр ён томонлари кенгайган ҳолда локаллашган. Ҳужайра

кесимининг юзасида бир текис жойлашган гликогеннинг миқдори цитоплазмада бир камайган.



4-расм. Бутилкаптакс киритилгандан кейин каламуш жигарининг тўқимаси. Турли электрон зичликка эга бўлган гепатоцит митохондриялари. Цитоплазмада гликоген зарралари. ТЭМ. 14 000 марта катталаштирилган

Баъзида жигар хужайраларининг билиар қутбларида липофусцин ва ўт суюқлиги компонентларининг тўдасини кузатиш мумкин.

Юқорида кўриб чиқилган гепатоцитлардаги морфологик ўзгаришлар бутилкаптакс киритилгандан кейин 24 соат ўтгач ҳам давом этади. Хусусан, жигар учун хос бўлган паренхиманинг оптик умумий тузилиши сақлаб қолинади, гепатоцитлар ядролари диаметри жихатидан сезилмас даражада фарқ қилади. Ушбу экспериментал гуруҳда жигарнинг микроциркуляр оқими учун синусоид капилларларда нотекис тўлақонлик хосдир. Бутилкаптакс киритилгандан кейин 24 соат ўтгач гепатоцилар цитоплазмаси учун турли даражада намоён бўладиган донадорлик, жойларда майда вакуолизация келиб чиқади. Перипортал зоналарда кучсиз намоён бўладиган шиш кузатилади.

Ҳайвонларга бутилкаптакс киритилгандан кейин 24 соат ўтгач гепатоцитларнинг ультраструктуравий тадқиқоти натижасида хроматин миқдори, айниқса конденсирланган қисмида камайган ядролар аниқланди. Ядролар 1-2 та ядрочалар сақлайди, улардан баъзиларининг ўлчамлари кичрайган. Фақатгина айрим жигар хужайралари пикноз ҳолатидаги ядроларни сақлайди.

Митохондриялар, асосан таёқчасимон шаклларининг миқдори камайган. Гепатоцитларнинг бир қисмида матрикс зичлигининг, бошқа қисмида – электрон зичлигининг сезиларли ортиши кузатилади. Бироқ у ҳолда

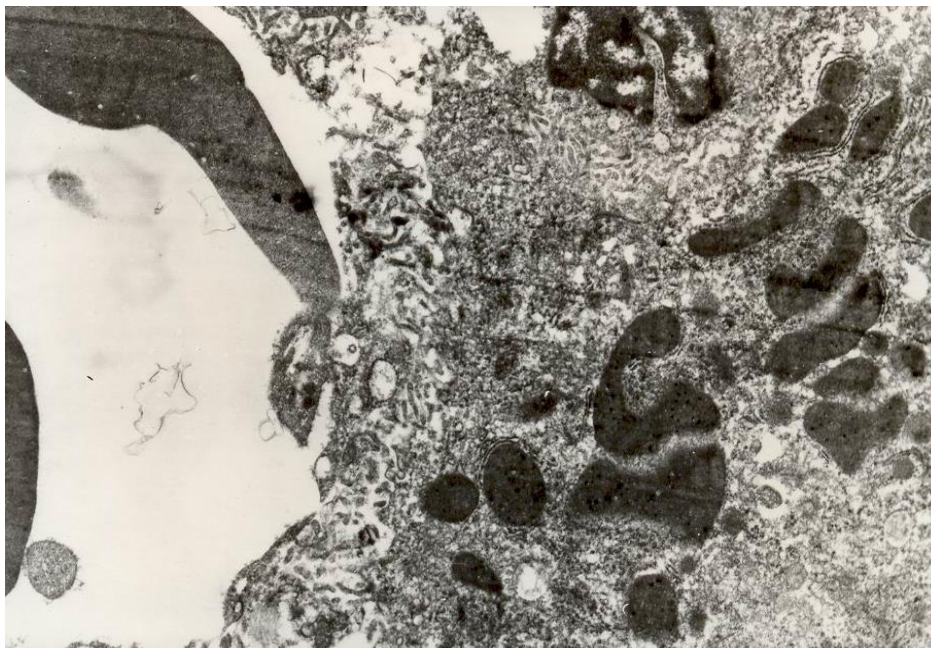
ҳам, бу ҳолда ҳам кристаллар топилмади. Донадор эндоплазматик тўр қисқарган, мембраналар билан боғланган рибосомаларнинг миқдори камайган. Силлиқ эндоплазматик тўрнинг ён томонлари кенгайган. Цитоплазмада гликоген миқдори жуда ҳам кам. Синусоид капиллярлар нотекис кенгайган, перисинусоид бўшлиқлар ҳам турли катталиқда.

Дропп киритилгандан кейин 3 соат ўтгач гепатоцитлар ядролари электрон микроскоп ёрдамида текширилганда хроматин кучсиз электрон зичликка эга эканлиги аниқланди, айниқса бу унинг конденсирланган қисмига тегишлидир. Ядрочалар асосан кичкина, ҳужайраларнинг бир қисми уларни иккитадан сақлайди. Майда ички ядроли қўшимчалар мавжуд бўлиб, улар ядро қобиғи яқинида тўпланadi. Митохондрияларнинг асосий массаси кичик ўлчамларга эга, таёқчасимон шакллар кўпроқ учрайди, матрикс электрон зичлиги яққол намоеън бўлади. Улардаги кристалларни кўз билан кўриб бўлмайди. Ҳайвонларга дропп киритилгандан кейин 3 соат ўтгач ҳужайраларнинг цитоплазматик матрикси бар оз юмшоқ. Бирламчи лизосомалар билан бир қаторда аутофагосомалар миқдори кўп эмас.

Ҳайвонларга дропп дефолианти киритилгандан кейин 3 соатлик вақт оралиғига нисбатан бир сутка ўтгач гепатоцитларнинг структуравий ҳолатида кенг ва яққол ўзраишлар кузатилиб, улар энергетик биосинтетик ва секретор жараёнларнинг жиддий зарарланишидан далолат беради.

Ҳайвонларга дропп ва кўрғошин биргалиқда киритилгандан кейин 3 соат ўтгач гепатоцитлар ядролари заиф полиморфизмга учрайди, цитоплазма жойларда умумий тиниқланиш фонида кучсиз донадорликни сақлайди. Гепатоцитларнинг митохондрияси асосан кичрайган диаметрга ва аралаш шаклларга эга бўлади. Уларнинг матрикси ўртача зичлашган, кристаллар амалда кўринмайди. Донадор эндоплазматик тўр миқдоран қисқарган, жойларда фрагментация ва вакуолизацияга учрайди. Гликогеннинг миқдори анча камайган. Ҳайвонларга дропп ва кўрғошин препаратлари биргалиқда киритилганда кейин 24 соат ўтгач айлана шаклдаги ядролар пайдо бўлиб, уларда хроматин миқдори камайиб кетади ва асосан биттадан ядроча сақлайди. Цитоплазмада лизосомалар жуда кам, аутофагасомлар ундан ҳам кам. Синусоид капиллярлар нотекис ўлчамларга эга, перисинусоид бўшлиқлар кенгайган ва сийрак қисқа микротукчалар билан тўлган (5-расм).

Ҳайвонларга бутилкаптакс ва кўрғошиннинг биргалиқда киритилиши улар алоҳида киритилганига нисбатан гепатоцитлар структуравий ҳолатининг янада оғирроқ патологик ўзгаришларига олиб келади. Ундан ташқари, таъкидлаш жоизки, кўрғошин билан бошқа дефолиант – дропп биргалиқда киритилишига нисбатан бутилкаптакс ва кўрғошин биргалиқда киритилгандан кейин 24 соат ўтгач гепатоцитларнинг ультраструктурасида янада яққолроқ ва чуқурроқ ўзгаришлар кузатилади.



5-расм. Дропп ва қўрғошин киритилгандан кейин 24 соат ўтгач каламуш жигарининг тўқимаси. Перисинусоид бўшлиқлар шишган, гепатоцит микротукчалари юмшаган. ТЭМ. 14 000 марта катталаштирилган

Диссертациянинг «Гепатоцитларнинг мембрана структуралари билан пестицидларнинг ўзаро таъсири» деб номланувчи олтинчи бобида Пестицидларнинг токсикологик таъсир механизмини очиш учун қўлланиладиган турли-туман ёндашувлар орасида физиологик-биокимёвий тадқиқотлар муҳим ўринлардан бирин эгаллайди. Улар структуравий тузилишларнинг турли: организм, тўқима, хужайра, органоид ва молекуляр даражасида ўтказилиши мумкин. Шулардан охирги 2-3 таси бугунги кунда истиқболли ёндашувлардан бири ҳисобланади, чунки улар аниқ морфо-функционал даражада ёки муайян хужайра структурасида у ёки бу пестициднинг таъсирини ўрганиш имконини беради. Бундай вазият бегона моддалар билан хужайра компонентлари таъсирланишининг бирламчи босқичларини аниқлашда айниқса муҳимдир.

«Адабиётлар таҳлили»да таъкидланганидек, турли хил биологик мембраналарнинг ва мембрана ҳосилаларининг структуравий-функционал ҳолатига пестицидларнинг таъсири етарлича ўрганилмаган.

Турли пестицидларнинг таъсир механизми, ва бинобарин, улар келтириб чиқарадиган метаболлик жараёнларнинг бузилишини тўғрилаш, биринчи навбатда шу бирикмаларнинг компартиментализацияси билан аниқланади. Бу масалага бағишланган адабиётларда кўп сонли маълумотлар мавжуд. Пестицидларнинг хужайра ичига тақсимланиш қиймати нафақат организмда пестицидлар киритилгандан кейин юзага келадиган биокимёвий силжишларни тушунтиришга, балки уларни олдиндан башорат қилишга ҳам имкон беради.

Кўп сонли тадқиқотлар асосида шу аниқландики, пестицидлар хужайра ичига киради, унда тўпланади ва муайян ферментларнинг таъсирини

ўзгартирган ҳолда ўзининг эффе́ктини намоён қилади (Г.З.Абдуллаева,, 2001).

Инсектицидлар, фунгицидлар ва гербицидлар биологик мембраналар таъсирлашади. Бунда пестициднинг мембрана сиртига адсорбцияси содир бўлади. Мембрананинг липидли қисми билан пестициднинг ўзаро таъсирланиш характери токсикант молекуласининг ўлчами, шакли, диполь моменти ва липофиллигига боғлиқ. Липофил хоссага эга бўлган пестицид молекулалари липидли қўшқаватнинг углеводородли қисмига ўрнашиб олади.

Шундай қилиб, пестицидларнинг таъсири тирик организмнинг турли ташкилий даражаларида намоён бўлиши мумкин. Пестициднинг тўқима ва ҳужайрага киришини дастлабки босқич сифатида қабул қиламиз, уларнинг ҳужайра органеллалари билан ўзаро таъсирланиши ҳужайра метаболизми кўринишларининг турли ўзгаришларида амалга ошади, хусусан ички ҳужайра компонентлари структурасининг, моддалар алмашинувининг, ҳужайра мембраналари ўтказувчанлигининг бузилишида намоён бўлади. Биргаликда буларнинг барчаси умумий ҳолда ҳужайра метаболизмининг чуқур ўзгаришларига олиб келади.

Биз томондан текширилган дефолиантлар вазиятида турли тўқималар ва ҳужайра органеллаларида, жумладан асосий нишонлардан бири – митохондрияларда уларнинг тўпланиш интенсивлигини ўрганиш масаласи очиқ қолди. Бу масалани ечиш мақсадида бизлар нишонланган пестицидлар иштирокида тажрибалар ўтказдик. Ундан ташқари, айрим тажрибаларда спин-нишонланган зондлардан ҳам фойдаланилди.

Тўқималар ва ички ҳужайра структураларига дроппнинг киришини ўрганиш бўйича тадқиқотлар Вистар каламушларида ўтказилди, уларга зонд ёрдамида ошқозон ичига активлиги 100 мкКц/100 г масса га тенг бўлган нишонланган дропп 1/5 ЛД₅₀ миқдорда киритилди. Нишонланган дроппнинг киришини ўрганиш бўйича олинган натижалар қйидагиларни кўрсатди, яъни радиоактив пестицид киритилгандан кейин 60-90 мин ўтгач унинг сезиларли фаоллиги каламушларнинг ўпкаларида, жигарида ва буйракларида намоён бўлди (тегишлича 823, 217 ва 688 имп./мин.мг оқсил), ³Н-дроппнинг озроқ тўпланиши каламушларнинг бош миясида кузатилди (149 имп./мин.мг оқсил).

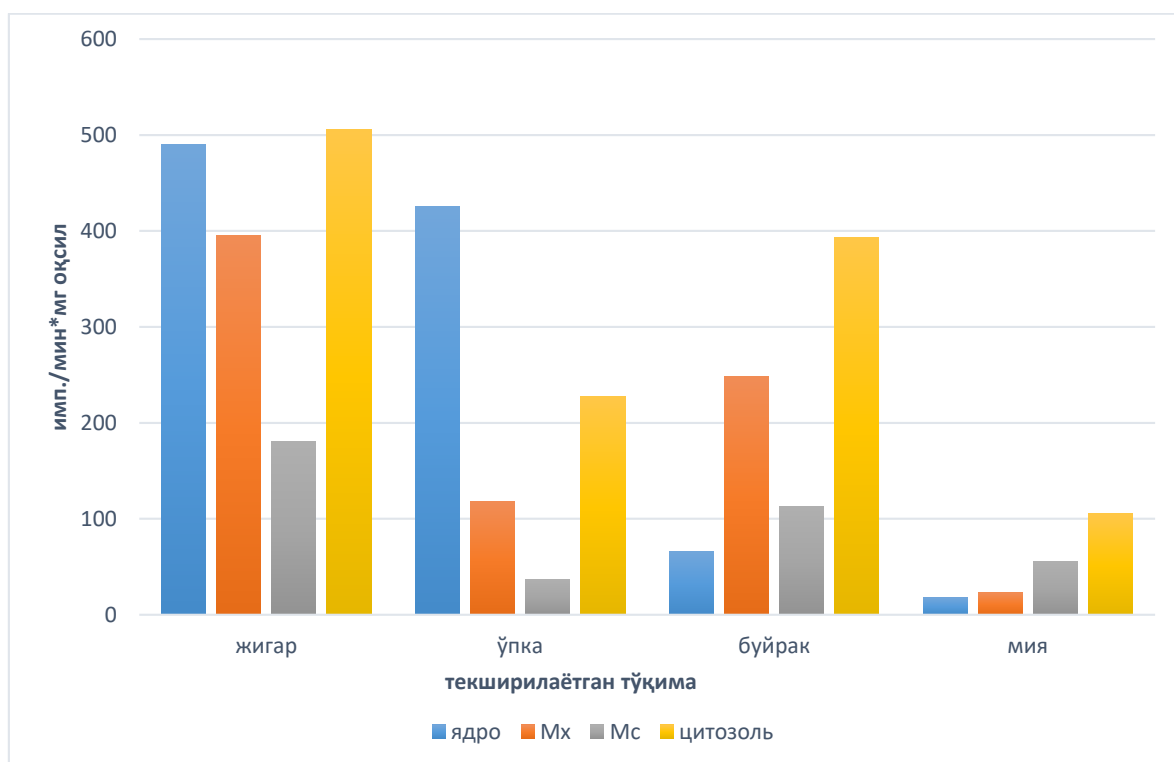
Дроппнинг ҳужайра ичида тарқалиши ўрағнилганда биз томондан текширилган барча тўқималарнинг цитоплазмаси, ядроси, митохондрияси ва микросомларги кириши аниқланди. Айниқса унинг катта миқдори каламушлар ўпкаси ва жигарининг ядролари, митохондрияси ва цитозаоль билан асоциланади.

Ўпка органоидларининг фракциясида нишонланган дроппнинг анчагина катта миқдори ҳужайра ядроси ва цитозали билан боғланади (425-228 имп./мин.мг оқсил), пестициднинг камроқ миқдори ўпка митохондриясида топилди (118 имп./мин.мг оқсил).

Нишонланган дроппнинг шунга ўхшаш тақсимланиши каламушларнинг жишарида ҳам кузатилади. Дроппнинг катта миқдори жигар

ядроларида, цитозолида ва митохондриясида (тегишлича 490, 506 и 395 имп./мин.мг оқсил), жишар микросомасида (181 имп./мин.мг оқсил) тўпланади.

Буйрак тўқимасида юқори фаоллик хужайраларнинг цитоплазматик фракциясида (393 имп./мин.мг оқсил) кузатилади, пестициднинг бир оз камроқ миқдори буйрак хужайраларининг митохондриялари ва микросомалари билан боғланади (тегишлича 248 ва 113 имп./мин.мг оқсил). Дроппнинг катта миқдори буйракларнинг ядро фракциясида намоён бўлади (66 имп./мин.мг оқсил). Қуйидаги 6-расм маълумотларидан кўринадики, каламушларнинг бош миясида бу пестициднинг миқдори юқори бўлмайди



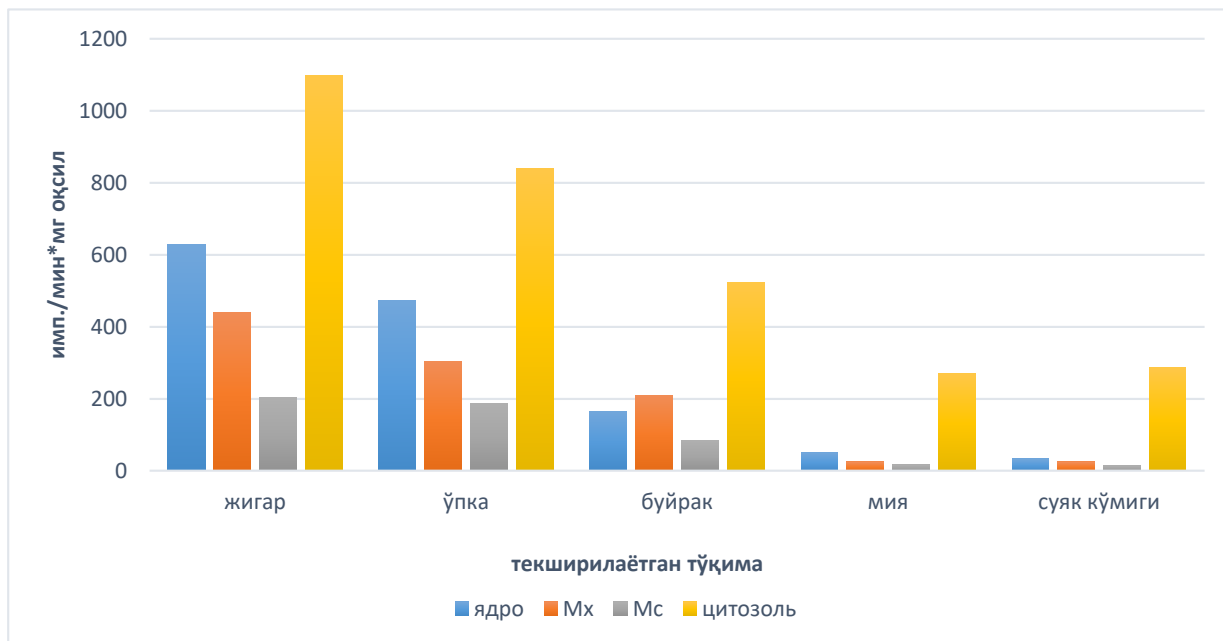
6-расм. (³H)-дроппнинг каламуш организми тўқималари ва органоид фракциялари бўйича тақсимланиши имп./мин·мг оқсил)

Тажрибаларнинг кейинги сериясида бутилкаптакс пестицидининг каламуш органлари бўйича тақсимланиши аниқланди. Тадқиқот натижаларига мувофиқ, қондаги нишоннинг максимал миқдори нишонланган пестицид киритилгандан кейин 20 минут ўтгач қайд қилинади. Қуйидаги 7-расмда тақдим этилган маълумотлардан кўринадики, радиоактив пестицид киритилгандан кейин 60 мин ўтгач юқори фаоллик жигар, ўпкалар ва буйракларда топилади. Энг кам миқдор каламушнинг бош миясида кузатилади.

Нишонланган бутилкаптакснинг хужайра ичида тақсимланиши бўйича ўтказилган тадқиқотлар қуйидагиларни кўрсатди, яъни пестицид турли тўқималар хужайрасининг цитоплазмаси, ядроси, митохондрияси ва микросомал фракциясига киради. Нишонланган пестициднинг анча катта

қисми жигар, ўпкалар ва буйрақларнинг цитозоли ва митохондрияси билан боғланади.

Шундай қилиб, радиоактив нишоннинг турли хужайра фракцияларида топилиши бу препаратнинг ички хужайра структура компонентлари билан таъсирланиш ва хужайранинг турли компонентларида метаболизмни бузиш қобилияти ҳақида далолат беради.



7-расм. (³H)-бутилкаптакснинг каламуш организми тўқималари ва органоид фракциялари бўйича тақсимланиши (имп./мин·мг оқсил)

Пестицидларнинг митохондрия мембраналари билан таъсирланиши. Биз томондан бутилкаптакс ва дропс тадқиқ этилиб, улар дефолиантлар – мой альдегидининг продуценти ҳисобланди. Р.К. Коблова ва ҳаммуалифлар (2001) фикрига кўра, ўсимликларда бу дефолиантлардан ҳосил бўладиган мой альдегиди барглarda ажратувчи қаватнинг ҳосил бўлишини кучайтирган ҳолда дефолиантловчи эффектни таъминлайди. Лекин таъсир механизmidан қатъий назар, дефолиантларда ёнаки ва заҳарли эффектларнинг мавжудлиги умумий муаммо ҳисобланади. Дефолиантнинг иссиқ қонлилар организмга заҳарли таъсири турли эффектларда, хусусан мембрана-фаол хоссасида намоён бўлади, бунда митохондриялар энг заиф ички хужайрали «нишон» сифатида қабул қилинади (Н.Г.Акиншина, 2001; А.А.Албантова, 2015).

Ушбу бўлимда бутилкаптакс ва дропс дефолиантларининг каламуш жигари митохондриясига *in vitro*, митохондриянинг бир қатор муҳим функцияларига (нафас олиш, ОФ, Ca²⁺ транспорти ва баъзи катионлар учун ички мембрананинг ўтказувчанлигига) бевосита таъсирини текшириш натижалари тақдим этилади.

Бутилкаптакснинг нисбатан кичик концентрациялари митохондриянинг V₃ ҳолатида нафас олиш тезлигини ингибирлайди, лекин V₄ ҳолатига таъсир

кўрсатмайди. Бунинг натижасида нафас назоратининг (НН) катталиги камаёди, АДФ/О кўрсаткичи эса ўзгармайди.

Бутилкаптаксни Ca^{2+} транспортига таъсирининг полярографик тадқиқоти ҳам текшириляган препаратнинг юқори концентрациялари митохондрияга ажратувчи таъсир кўрсатишини тасдиқлади: бутилкаптакс томонидан ажратилган митохондрия Ca^{2+} ни тўплаш қобилиятини йўқотади. Лекин бутилкаптаксининг қуйи концентрациялари Ca^{2+}/O коэффицентига таъсир кўрсатмайди. Бутилкаптакс қўшилиши митохондрияда тўпланган Ca^{2+} нинг ажралишини ва НАД(Ф)Н нинг оксидланишини келтириб чиқаради. Бутилкаптаксининг Ca^{2+} дан олдин киритилиши пиридиннуклеотидларнинг тез оксидланишига ва қўшиладиган Ca^{2+} ни митохондриялар томонидан тўплаш қобилияти йўқолишига олиб келади.

Маълумки, митохондрия мембраналарида турли ионлар учун ўтказувчанлиги ортганда ички мембранада H^+ нинг электрохимёвий потенциали камаёди ва АТФ синтези, Ca^{2+} тарнспорти, НАДнинг сукцинат томонидан оксидланиши каби энергетик жараёнларнинг боришига тўсқинлик қилади. Шунга биноан бир савол туғилади, митохондрия ички мембранаси ўтказувчанлигининг ортишини юқорида тавсифлаб ўтилган бутилкаптакс эффектлари келтириб чиқарадимиз, ва агар – ҳа бўлса, унда қайси ионлар учун?

Кальций, калий ва аммонийнинг изоосмотик эритмаларида митохондриянинг энергетик бўкиши бўйича ўтказилган тадқиқотлар шуни кўрсатдики, бутилкаптакс барча текширилган катионлар (H^+ , K^+ , Ca^{2+}), шунингдек сахарозанинг нейтрал молекуласи учун митохондрия мембраналарининг ўтказувчанлигини кучайтиради. Шундай қилиб, бу пестициднинг Ca^{2+} транспорти ва митохондриядаги бошқа энергетик жараёнларига (АТФ синтези, электроннинг тесқари кўчиши ва бошқаларга) ингибирловчи таъсирининг асосини ички мембрана ўтказувчанлигининг носпецифик ортиши ва бунинг натижасида мембрана потенциалининг камайиши ташкил қилади.

Қуйидаги 1-жадвалда бутилкаптакс ва дропнинг ОФга, шунингдек тўпланган Ca^{2+} нинг каламуш жигари митохондриясидан чиқиш тезлигига таъсири бўйича маълумотлар келтирилган.

Юқорида таъкидланганидек, бутилкаптакс ОФга нисбатан ажратувчилик қобилиятини намоён қилади, шу билан бир қаторда у митохондриянинг фаол ҳолатидаги нафас олиши V_3 ни ингибирлайди ва митохондрияда тўпланган Ca^{2+} нинг чиқиш тезлигини кучайтиради.

Бутилкаптаксдан фақрли равишда, дропп дефолианти ажратувчилик фаоллигини намоён қилган ҳолда, 300 мкМ концентрацияда НН катталигини 1 гача пасайтиради. Дропп изоляцияланган митохондрияларнинг метаболик ҳолатдаги нафас олиш тезлиги V_3 ни 20-30% га ва тинч ҳолатдаги тезлқни (V_4) сезиларли даражада (4-5 марта) кучайтиради. Бутифосга ўхшаш дропп митохондрияда олдинроқ тўпланган Ca^{2+} нинг чиқишини тезлаштиради. Масалан, 300 мкМ дропп иштирокида Ca^{2+} нинг чиқиш тезлиги 11 марта ортади.

Турли дефолиантларнинг каламуш жигари митохондрияларининг функционал параметрларига таъсири

Дефолиант	Концентрация, мМ	Текширилган препарат, %			
		V ₃	НН	АДФ/О	Ca ²⁺ нинг чиқиш тезлиги
Назорат		100	100	100	100
Бутилкаптакс	0,1	48	55,6	99,5-*	1300
	0,3	36	25,8		1500
Дропп	0,1	119	57	85-*	440
	0,3	132	26		1100

Изоҳ: *НН = 1 ва полярографик эксперимент шароитида АДФ/О катталигини ўлчаб бўлмади.

Бу дефолиантнинг ОФ ва Ca²⁺ транспортига таъсир механизмини аниқлаш мақсадида биз унинг эффектларини митохондрия ички мембранасининг баъзи ионларни ўтказиш қобилиятига нисбатан кўриб чиқдик. Олинган маълумотлардан аниқландики, 50-100 мкМ концентрацияли дропп митохондрия мембранасининг протон ўтказувчанлигини сезиларли даражада оширади ва шу билан бирга Ca²⁺ ионларини ўтказиш тезлигига таъсир кўрсатмаган ҳолда, фақатгина калийли ўтказувчанликни бир оз кўпайтирди.

Таъкидлаш жоизки, бутилкаптаксдан фарқли равишда дропп бошқа кўп сонли текширилган ионларнинг носпецифик ўтказувчанлигини кучайтирмайди, яъни у танлаб таъсир қилиш хусусиятини кўрсатиб, фақат митохондрия мембранасининг протон ўтказувчанлигини кучайтиради. Дроппнинг митохондриядан Ca²⁺ нинг чиқиш тезлигига таъсир қилиш эффекти протонофор фаоллик ҳисобига DmH⁺ нинг камайиши сабабига кўра намоён бўлади.

Бутилкаптакснинг ОФга таъсирини ўрганиш бўйича ўтказилган текширишлар бу дефолиантнинг нисбатан юқори ажратувчилик хусусиятини аниқлашга имкон берди (2-жадвал). Бироқ назорат намунасида НН катталигининг камайиши метаболик ҳолатдаги нафас олиш тезлигининг кўпайиши ҳисобига эмас, балки V₃ ва V₄ метаболик ҳолатларда нафас олиш фаоллигининг умумий пасайиши ҳамда бир вақтнинг ўзида АДФ/О нисбатнинг камайиши натижасида содир бўлади. Мисол учун, бутилкаптакснинг 100 мкМ концентрациясида митохондриянинг V₃ ҳолатдаги нафас олиш тезлиги 60% га, НН катталиги ярим бараварга, АДФ/О – 30% га камайди.

Таърибаларнинг бошқа сериясида бутилкаптакснинг митохондрия ички мембранасининг ўтказувчанлигига таъсири ўрганилди, бу тадқиқотлар уларнинг энергетик бўқиш шароитларида ўтказилди.

Асосан протон ўтказувчанлигини кучайтирадиган дроппдан фаркли равишда, 50-100 мкМ концентрацияли бутилкаптакс митохондрия мембраналарининг ўтказувчанлигини K^+ , H^+ ва Ca^{2+} ионлари учун бир неча бараварга оширади, бу хусусияти билан у бутифосни эслатади.

2-жадвал

Бутилкаптакснинг каламушлар жигари митохондрияларининг нафас олишига ва оксидланишли фосфорланишига таъсири

Бутилкаптакс концентрацияси, мкМ	Нафас олиш, нг-атом O/мин.мг оксил			
	V3	V4	НН	АДФ/0
0	75	20	3,75	1,85
50	57	19	3.00	1.76
100	32	17	1.82	1.28

Изоҳ: Инкубация муҳити: 125 мМ сахароза, 60 мМ KCl , 5 мМ сукцинат, 4 мМ фосфат, 5 мМ трис- KCl , 0,5 мкг/мл ротенон. рН 7,4.

Бинобарин, митохондриял мембраналарга (умуман олганда биологик мембраналарга) бутилкаптакс билан таъсир кўрсатилганда ўтказувчанликнинг носпецифик кўпайиши содир бўлади. Дропп асосан протоннинг кўчишини кучайтирган ҳолда, анча юқори танлаш хусусиятини намоён қилади.

Хужайра структураларининг функционал фаоллигига оғир металлларнинг таъсири: маълумки, тирик организмларда муайян миқдорларда Менделеев жадвалининг деярли барча элементлари мавжуддир. Шу сабабли турли организмларнинг нормал ҳаёт фаолияти учун уларда металллар, шу жумладан оғир металлларнинг муайян концентрациялари бўлиши керак. Кўпгина илмий тадқиқотларда энергетик жараёнлар, ионлар транспорти, металлферментларнинг каталитик фаоллиги, ҳайвонлар ва ўсимликларнинг алмашинув жараёнлари учун турли металллар, шу жумладан оғир металллар ионларининг муҳим аҳамияти таъкидлаб ўтилган. Ундан ташқари, оғир металллар организмда структура функциясини бажаради, коферментлар ва нуклеин кислоталар таркибига киради ва ҳоказо. Шунинг учун оғир металлларнинг етишмочилиги билан бир қаторда, уларнинг ортиқчаси хилма-хил патологияларга, организм функциясининг бузилишларига, турли органларнинг касалликларига ва бошқаларга олиб келади. Шунингдек некроз ва апоптозни ҳам оғир металлларнинг ионлари келтириб чиқаради (Kondoh M., Araragi S., Sato K. et all, 2002; Sasaki M., Miyazaki K., Koga Y., Kimura G. et all. 2002).

Олдинроқ таъкидлаб ўтганимиздек, тажриба ҳайвонлари гепатоцитлар ультраструктурасига кўрғошин ва кадмий ионларининг биргаликда таъсири ҳар бир металлнинг алоҳида таъсирига нисбатан яққолроқ намоён бўлади. Бу ҳолат, ҳаттоки биргаликда таъсир вақтида металлларнинг умумий миқдори алоҳида таъсир кўрсатган металлнинг миқдоридан кам бўлган ҳолатда ҳам

кузатилади. Бошқача айтганда, кўрғошин ва кадмий бирикмалари бир-бирининг таъсирини кучайтиради.

Ушбу бўлимда баъзи оғир металллар ва улар аралашмасининг каламушлар жигари митохондрияларининг функционал ҳолатига таъсири ўрганилди. Бу тадқиқотлар оғир металллар ионларининг тўқима ва органлар ҳолати, физиологик функциялари, ва айниқса, хужайра ва ички хужайра органелаларининг энергетик метаболизмига таъсирини тавсифлаш мақсадида ўтказилди. Шунга асосан, митохондрия мембраналарининг нафас олиши, ОФ, бир қатор катионлар учун пассив ўтказувчанлиги, шунингдек биомембраналар (ПОЛ) га оғир металлларнинг таъсирини текшириш кўзда тутилган эди.

Таъкидлаш жоизки, кадмийнинг киритилиши ҳайвонлар захарланишининг оғир даражасига келтириб, у қуйидаги аломатлар билан характерланади: ҳайвонларнинг орқа оёқлари ишламай қолди, перапаратнинг иккинчи дозаси киритилгандан кейин тажовузкорлик намоён бўлди, организмда суюқликнинг тўпланиши қайд этилди, унинг натижасида умумий шишиш кузатилди. Унлан ташқари, ҳайвонларда тимус тўлиқ йўқолди, ажратиб олинган митохондриялар эса назорат намунасига нисбатан жуда қорамтир рангда эди.

Каламушларга ҳайвон массасига нисбатан 1,25 мг/100 г дозада $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ нинг икки кун давомида киритилиши каламушлар жигаридаги изоляцияланган митохондрияларнинг V_3 метаболик ҳолатида нафас олишини (Чанс бўйича) 34,5% га ва V_4 ҳолатда – 40% га ингибирлашини келтириб чиқаради, оксидланиш субстрати сифатида сукцинат қўлланилди. Бунинг натижасида НН коэффициентининг қиймати 4,5% гача кўпайди (назорат намунасида 4,0), АДФ/О нисбат эса 1,41% гача камайди (назорат намунасида 1,9). Бу маълумотларга асосланган ҳолда шундай хулосага келиш мумкин, яъни Cd^{2+} ионлари каламушлар жигар митохондриялари нафас олиш занжирининг электрон-транспорт функцияси ингибирлашини *in vivo* кучайтиради.

Ҳайвонларга 4 мг/100 г дозада $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COOH})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ икки кун давомида киритилиши каламушлар жигар митохондрияси нафас олишининг барча метаболик ҳолатларда кучайтиради: V_3 – 14% га, V_4 – 27% га, натижада НН ва АДФ/О коэффициентларининг катталиклари камаяди (3-жадвал).

Ҳайвонларга кадмий ва кўрғошин тузлари аралашмасининг (дозаси 0,6 мг аралашма/100 г ҳайвон массаси, икки кун давомида) киритилиши V_3 ҳолатда сукцинат оксидланишининг сезилмас даражада ингибирланишига, V_4 ҳолатда нафас олишинининг 15% га кучайишига ва НН катталигининг 3,4 гача (назорат намунасида 4,6), АДФ/О нинг эса 1,0 гача (назорат намунасида 1,9) камайишига олиб келади. Тажрибаларнинг бу сериясида асосан кўрғошин ионларининг таъсири намоён бўлди, уларнинг алоҳида таъсир қилиниши ОФнинг ажралишини келтириб чиқарган эди.

Каламушлар жигар митохондриясининг функционал ҳолатига рухнинг (дозаси 3 мг/100 г масса, икки кун давомида) *in vivo* таъсири ўрганилди, бу препарат сукцинатнинг оксидланишини барча метаболик ҳолатларда шундай

ингибирлайдики, бунда НН катталиги 3,5 гача, АДФ/О нисбат эса 1,3 гача камаяди (3-жадвал).

3-жадвал

in vivo тажрибаларда каламушлар жигар митохондрияларининг оксидланишли фосфорланишига оғир металлларнинг таъсири

Ҳайвонлар гуруҳи	Кислородни сарфлаш тезлиги, нг-атом О/мин.мг оқсил.				
	V ₃	V ₄	ДК	АДФ/О	V _{днф}
Назорат	74,0	18,5	4,0	1,9	73,9
Кадмий тузи	48,5	11,1	4,4	1,4	58,1
Қўрғошин тузи	84,4	23,5	3,6	1,0	93,3
Кадмий ва қўрғошин тузлари аралашмаси	72,1	21,3	3,4	1,1	79,7

Изоҳ: Инкубация муҳити: 100 мМ КС1, 5 мМ трис-буфер, 0,8 мМ калий фосфат, 5 мМ сукцинат, рН – 7,1. Қўшимчалар: 250 мкМ АДФ, 200 мкМ ДНФ.

Шундай қилиб, каламушларга оғир металлларнинг киритилиши жигар митохондрияларининг функционал ҳолатида ўзгаришларни келтириб чиқаради, натижада асосан фосфорланиш эффективлиги сезиларли даражада бузилади. Кадмий ва қўрғошин препаратлари биргаликда 2 сутка давомида критилганда изоляцияланган митохондриялар ОФ механизмида «қўрғошинли» захарланишга хос бўлган аломатлар намоён бўлади, лекин шу билан бирга V_{днф} параметри билан баҳоланадиган нафас олиш занжирининг фаоллиги кадмий ва қўрғошин вариантлари орасида оралиқ ҳолатни эгаллайди.

Бу тажрибаларнинг натижалари гепатоцитлар ультраструктурасига кадмий ва қўрғошин ионларининг алоҳида ва биргаликда таъсири бўйича юқорида тақдим этилган маълумотларга мос келади. Хусусан таъкидланган эдики, жами миқдори ҳар бир металл тузи учун олинган индивидуал дозасидан юқори бўлмаган шароитларда қўрғошин ва кадмийнинг биргаликда қўлланилиши жигар тўқимаси структурасининг зарарланишини оғирлаштиради, бунда патологик жараёнга турли органеллалар жалб қилинади. Захарли препаратлар алоҳида қўлланилганда намоён бўладиган аломатлар билан бирга, бир қатор янгилари ҳам пайдо бўлди, бу эса кадмий ва қўрғошин преапаратлари бир-бирини кучайтириш тўғрисидаги фикрларга олиб келади.

Тажрибаларнинг бошқа сериясида (4-жадвал) каламушлар жигар митохондриялари ОФга оғир металлларнинг таъсири *in vitro* ўрганилди.

Каламушлар жигар митохондрияларининг суспензиясига кадмий ионларининг охириги 10⁻⁵М концентрациягача киритилиши нафас олишнинг стимуляциясини V₃ ва V₄ ҳолатларда бараварига келтириб чиқаради, натижада НН катталиги назорат даражасида қолиб, АДФ/О коэффиценти

сезилмас даражада камаяди. Кадмий концентрацияси $2 \cdot 10^{-5} \text{M}$ гача кўпайтирилганда митохондрия нафаси V_3 ҳолатда 70% га қисқаради, унга мувофиқ НН коэффиценти 1,2 гача ва АДФ/О – 1,4 гача камаяди. Кадмийнинг 10^{-4}M концентрациясида НН катталиги 1 гача камаяди, яъни нафас назорати механизми камайиши билан ажралиш жараёни содир бўлади. Бу натижалар *in vivo* ўтказилган тажрибалардан олинган натижаларга зид келмайди, чунки иккала ҳолатда ҳам, кадмий каламушлар жигар митохондрияларидаги нафас олиш занжирининг электрон кўчириш функциясига ўз таъсирини кўрсатади.

4-жадвал

in vitro тажрибаларда каламушлар жигар митохондрияларининг оксидланишли фосфорланишига оғир металларнинг таъсири

Препаратлар	Концентрация (M)	Кислороднинг сарфланиш тезлиги, нг-атом О/мин·мг оқсил				
		V_3	V_4	ДК	АДФ/О	$V_{днф}$
Назорат		65,0	7,0	3,8	2,0	78,0
Кадмий тузи	10^{-5}	78,0	20,5	3,8	1,9	77,0
	2×10^{-5}	19,5	16,5	1,2	1,4	25,0
	10^{-4}	15,0	15,0	1,0	-	15,0
Кўрғошин тузи	4×10^{-5}	51,5	14,0	3,6	1,8	61,0
	10^{-4}	37,0	19,0	1,9	1,2	28,0
Cd+Pb тузлари аралашмаси	10^{-6}	62,0	26,5	2,3	1,9	84,0
	2×10^{-6}	32,0	21,0	2,9	1,6	44,0
	10^{-5}	19,0	19,0	1,0	-	19,0

Изоҳ: Инкубация муҳити: 100 мМ КС1, 5 мМ трис-буфер, 0,8 мМ калий фосфат, 5 мМ сукцинат, рН – 7,1. Қўшимчалар : 250 мкМ АДФ, 200 мкМ ДНФ.

Кўрғошин препарати $4 \cdot 10^{-5} \text{M}$ концентрациядан бошлаб митохондрияларнинг нафас олишини ингибирлайди ва бу эффект концентрация 10^{-4}M гача кўпайиши билан кучайиб боради, бунда V_3 43% га тормозланади, АДФ/О коэффиценти 1,2 гача, НН эса – 1,9 гача камаяди. 2,4-ДНФ нинг иштироки кислород сарфи тезлигини максимал даражада кучайтирмайди, бу эса митохондриялар нафас олиш занжири даражасидаги эффектлар ҳақида далолат беради.

Таъкидлаш жоизки, кўрғошин препаратининг таъсири бўйича *in vitro* олинган тажриба натижалари *in vivo* тажриба маълумотларига мос келмайди. Агар *in vivo* шароитида кўрғошин ОФнинг барча метаболик ҳолатларида нафас олишнинг кучайишини келтириб чиқарса, унда *in vitro* шароитида кислород сарфи тезлигининг ингибирланиши яққол намоён бўлади. 2,4-ДНФ нинг бу ингибирлинишга таъсир қила олмаслиги митохондрия мембранасида электрон-транспорт занжирининг тормозланишидан далолат беради. Эҳтимол, *in vivo* тажрибаларида биз ишлатган шароит ва муддатларда кўрғошин препаратининг митохондрия мембранасига бевосита таъсири эмас, балки билвосита – ферментлар фаоллиги ва метаболизмнинг кенг қўламда тормозланиши, хужайра органеллалар структурасининг қайта қурилиши

орқали таъсири содир бўлиб, яқунда ОФнинг ажралишини келтириб чиқаради.

Митохондрия мембранасининг кўрғошин билан *in vitro* шароитида ўзаро таъсири митохондрия нафас олишининг ингибирланишини келтириб чиқаради. Қуйи концентрациядаги (10^{-6} М) кадмий ва кўрғошин аралашмаси асосан V_4 ни 36 % га кучайтириш ҳисобига ОФнинг ажралишига олиб келади, оксидланиш субстрати сифади сукцинат қўлланилади, бунда НН катталиги 2,3 гача камаяди (назорат намунасида 3,8). Кўрғошин ва кадмий аралашмасининг концентрацияси 10^{-5} М гача кўпайиши билан учинчи метаболик ҳолатда кислород сарфи тезлигини ингибирлаш эффектининг кучайиши ва ОФнинг тўлиқ ажралиши кузатилиб, у 71% га ингибирланган нафас олиш шароитида содир бўлади.

ХУЛОСАЛАР

1. Кимёвий моддалар алоҳида киритилганда жигарнинг масса коэффициенти қуйидаги тартибда ўзгаради: кадмий тузлари > кўрғошин тузлари > бутилкаптакс дефолианти > дропп дефолианти. Кадмий ва кўрғошин тузларининг биргаликда таъсири кўрғошинли захарланиш ҳолатини акс эттиради. Кўрғошин тузининг дропп ёки бутилкаптакс билан биргаликда киритилиши бу коэффициентнинг ортишига олиб келади. Бу эса кимёвий моддаларнинг ҳар бири алоҳида киритилишига нисбатан дефолиантлар билан оғир металлларнинг тузлари биргаликда киритилганда жигарнинг кучлироқ захарланишидан далолат беради.

2. Оғир металллар билан захарланганда гепатоцитлар ва жигар томирларининг реакцияси захарланишнинг эрта муддатида (3 соатдан кейин), дефолиантлар билан захарланганда эса кечки муддатларда (2 соатдан кейин) яққолроқ намоён бўлади.

3. Кўрғошин ва кадмий тузларининг препаратлари ҳайвон массасига нисбатан 6 мг/100 г миқдорда каламушларга бир маротаба киритилганда гепатоцитларда асосан гетеросинтез учун жавобгар структуралар шикастланади. Гепатоцитлар ядросида конденсирланган хроматин миқдорининг камайиши кузатилади, ядроларнинг бир қисми ядрочалар сақламайди, баъзи ядролар нотўғри шаклда, митохондриялар миқдори камайган. Кўрғошин ва кадмий препаратларининг биргаликда киритилиши биоэнергетик ва биосинтетик функцияларни амалга ошириш учун жавобгар бўлган гепатоцилар ультраструктурасида патологик бузилишларга олиб келади. Бунда ядро хроматинининг электрон зичлиги тушади, унинг конденсирланган компоненти камаяди, цитоплазмада гликоген зарралари йўқолади.

4. Ҳайвонларга бир маротаба қорин ичига кўрғошин ва кадмий тузининг (тана массасига нисбатан 6 мг/100 г миқдорда) киритилиши жигар митохондрияларида патологик ўзгаришларга олиб келади – ўлчами катталашади, миқдори камаяди, кристаллар парчаланади ёки йўқолади, шакли ўзгаради. Митохондрия матрикси электрон зичлигининг ортиши, кристалларнинг ўртача гиперплазияси, грануляр ва силлиқ эндоплазматик тўр

ёнларининг парчаланиши ва вакуолизацияланиши ўзига хос хусусиятлардан бири ҳисобланади. Уларнинг биргаликда таъсири остида митохондрияларнинг катталаниши, крист миқдорининг кўпайиши, силлиқ ва грануляр эндоплазматик тўр ёнларининг қисқариши кузатилади.

5. Дропп дефолианти билан ҳайвонларнинг захарланиши натижасида бир суткадан кейин гепатоцитлар структурасида кенг қамровли ўзгаришлар содир бўлади. Дропп цитоплазма, ядрога кириб боради, текширилган барча тўқималарнинг митохондриялари ва микросомаларида у катта миқдорларда аниқланди. Айниқса унинг сезиларли миқдори каламушлар ўпкалари ва жигарининг ядролари, митохондриялари, цитозоли билан боғланади. Кўрғошин тузлари ва дроппнинг ҳайвонлар организмига биргаликда киритилиши бир-бирини кучайтириш эффектига олиб келади, натижада жигарнинг структуравий компонентлари зарарланади, гепатоцитлар цитоплазмасида гликоген зарралари камаяди, баъзи ҳолатларда умуман йўқолиб кетади.

6. *in vivo* тажрибаларида бутилкаптакс жигарнинг структуравий компонентларига зарар етказди. Бутилкаптакс ва кўрғошиннинг биргаликда киритилиши улар алоҳида киритилишига нисбатан гепатоцитлар структурасини кўпроқ бузади. Бу моддалар биргаликда киритилгандан кейин 24 соат ўтгач гепатоцитлар ультраструктурасида кузатиладиган ўзгаришлар кўрғошиннинг бошқа дефолиант – дропп билан биргаликда киритилишига нисбатан янада яққолроқ ва чуқурроқ намоён бўлади.

7. Нишонланган пестицидлар (дропп ва бутилкаптакс) киритилгандан кейин 60-90 минут ўтгач каламушларнинг ўпкалари, жигари, буйраклари, бош миясида тўпланиши аниқланди. Текширилган пестицидлар турли тўқималари ҳужайрасининг цитоплазмаси, ядроси, митохондриялари ва микросомал фракциясига кириб боради. Нишонланган пестицидларнинг катта миқдори жигар, ўпка ва буйракларнинг цитозоли ва митохондриялари билан ассоциатланади.

8. Бутилкаптакс ва дропп дефолиантлари 10-50 мкМ концентрацияда митохондрияларнинг V_3 ҳолатида нафас олишига самарали таъсир кўрсатади ва ОФни ажратади, митохондриялардан Ca^{2+} нинг чиқишига олиб келади. Бутилкаптакс митохондрия мембраналарининг H^+ , K^+ , Ca^{2+} ионлари ва нейтрал сахароза молекуласи, дропп эса H^+ ионлари ва кам ҳолларда K^+ учун пассив ўтказувчанлигини оширади.

9. *in vitro* ва *in vivo* тажрибалар қуйидагиларни кўрсатди, яъни оғир металлларнинг (кадмий, кўрғошин) тузлари ОФни ажратган ҳолда нафас назорати механизмини бузади, митохондриялар ички мембраналарининг пассив ўтказувчанлигини оширади. Ҳайвонлар организмига кадмий ва кўрғошин тузлари аралашмаси (ҳайвон массасига нисбатан 0,6 мг/100 г миқдорда) киритилгандан кейин икки сутка ўтгач каламушлар жигар митохондрияларида нафас олиш занжирининг электрон-транспорт функцияси ингибирланиши ҳисобига АТФ синтезининг камайиши содир бўлади.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSC/PhD.04/30.12.2019.Tib.93.01 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ БУХАРСКОМ ГОСУДАРСТВЕННОМ
МЕДИЦИНСКОМ ИНСТИТУТЕ**

БУХАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ

ОЧИЛОВ КОМИЛ РАХИМОВИЧ

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА
МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО И УЛЬТРАСТРУКТУРНОГО СТРОЕНИЯ
ГЕПАТОЦИТОВ ПЕЧЕНИ В НОРМЕ И ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ
РАЗЛИЧНЫХ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ**

14.00.02 –Морфология

**АВТОРЕФЕРАТ
ДОКТОРСКОЙ (DSc) ДИССЕРТАЦИИ ПО МЕДИЦИНСКИМ НАУКАМ**

Бухара – 2020

Тема докторской (DSc) диссертации по медицинским наукам зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за № В2020.2.DSc/Tib405.

Диссертация выполнена в Бухарском государственном медицинском институте.

Автореферат докторской диссертации на двух языках (узбекский, русский, английский (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (www.bsmi.uz) и на Информационно-образовательном портале “ZiyoNet” (www.ziynet.uz).

Научный консультант: **Тешаев Шухрат Жумаевич**
доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты: **Наумова Любовь Ивановна**
(Российская Федерация)
доктор медицинских наук

Расулов Хамидулла Абдуллаевич
доктор медицинских наук

Рахматова Мукаддас Холтаевна
доктор медицинских наук

Ведущая организация: **Университет Павла Йозефа Шафарика**
(Словакия)

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2020 г. в ____ часов на заседании Научного совета DSc/PhD.04/30.12.2019.Tib.93.01 при Бухарском государственном медицинском институте. (Адрес: 200118, г. Бухара, улица Наваи, 1, Тел./факс: (+99865) 223-00-50; тел: (+99865) 223-17-53; e-mail: buhmi@mail.ru).

С диссертацией (DSc) можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Бухарского государственного медицинского института (зарегистрирована за № ____). Адрес: 200118, г. Бухара, улица Наваи, 1, Тел./факс: (+99865) 223-00-50.

Автореферат диссертации разослан « ____ » _____ 2020 года.

(реестр протокола рассылки № ____ от « ____ » _____ 2020 года).

А.Ш. Иноятов
Председатель Научного совета по присуждению
учёных степеней, доктор медицинских наук

Н.У. Нарзуллаев
Ученый секретарь Научного совета по присуждению
учёных степеней, доктор медицинских наук

Н.А. Нураллиев
Председатель Научного семинара при Научном
совете по присуждению учёных степеней,
доктор медицинских наук, профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора наук (DSc))

Актуальность и востребованность темы диссертации. В мире охрана здоровья населения является актуальной проблемой глобального масштаба. Преобладающую часть загрязнителей окружающей среды составляют пестициды, без использования которых невозможно перспективное развитие сельского хозяйства. «По данным Всемирной Организации Здравоохранения ежегодно в мире отравлению пестицидами подвергаются от 500 тысяч до 2 млн человек, причем 40 тысяч случаев завершается смертельным исходом»¹. В настоящее время запрещено или ограничено применение высокотоксичных фосфорорганических и хлорорганических пестицидов, они замещаются пестицидами, производными пиретроидных, пиразоловых и других классов. Их преимуществами считаются: относительно низкая токсичность для организма животных и человека, высокая эффективность в отношении насекомых при воздействии в сравнительно малых дозах. Использование пестицидов для повышения урожайности, в мировом масштабе обуславливается актуальностью проблемы разработки мер по профилактике отрицательных последствий их воздействия на организм человека и животных.

В мировом масштабе настоящее время зарегистрировано более 1500 видов пестицидов, применение которых в сельском хозяйстве приводило к массовой гибели птиц и животных, также «...наблюдалось экзогенное загрязнение почвы тяжелыми металлами, превышающими фоновую концентрацию: по свинцу до 10 раз, по кадмию от 3 до 8 раз...»². По результатам исследований Государственного мониторинга «...окружающей природной среды Узбекистана ...»³, загрязнение подземных вод в низовьях рек Амударья (Республика Каракалпакстан и Хорезмская область) и Зарафшан (Бухарская и Навоийская области) носит региональный характер и формируется под влиянием сельскохозяйственных факторов. Так, подземные воды Бухарской области не отвечают требованиям OzDSt 950-2011. В Навоийской области загрязнение подземных вод отмечается в южной, центральной и северной частях территории. Большая часть этих вод характеризуется повышенными значениями минерализации общей жесткости, сульфатов, нитратов, аммония. Повышенное содержание аммония (> 10 ПДК) наблюдается по всем областям (за исключением Республики Каракалпакстан, где ПДК превышена в 1,6 раз), но особенно в Самаркандской – 32 ПДК, Джизакской - 32 ПДК и Бухарской областях – 27 ПДК.

На сегодняшний день в нашей стране среди различных слоев населения проводится широко масштабная работа по раннему выявлению соматических

¹ Основные показатели здоровья по европейскому региону. ВОЗ. 2014 год.

² Barnola F.V., Camejo G. Villegans R. DDT-nerve membrane inter-action and ionic channels. // "Biophys.Soc.Program. and Abstrs 15th Ann.Meet., New Orleans, La., ".2001 - New York, - P.51.

³ Мониторинг окружающей природной среды: Доклад о состоянии окружающей среды и использовании природных ресурсов в Республике Узбекистан за 2002-2004 гг. (по результатам исследований по программе Государственного мониторинга окружающей природной среды).- Ташкент, 2015. – 51 с.

заболеваний и снижению осложнений, созданию здоровой обстановки среди людей, предупреждению распространения и профилактики болезни. В Стратегии действий по пяти приоритетным направлениям дальнейшего развития Республики Узбекистан на 2017–2021 годы определены следующие задачи: «... способствующих повышению качества оказания медицинской помощи населению, оздоровлению, обеспечению и укреплению материальной технической базы медицинских учреждений первичного звена и скорой неотложной помощи ...»⁴. Исходя из сказанного выше, особое внимание уделяется повышению уровня оказания медицинских услуг населению, в предотвращении токсического воздействия пестицидов и солей тяжелых металлов на организм человека и животных. В результате масштабных реформ, осуществленных за годы независимости, в нашей стране достигнуты определенные успехи в предотвращении токсического воздействия пестицидов и солей тяжелых металлов на организм человека и животных.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных Законом Республики Узбекистан «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения», «Об охране труда» и в Постановлении Президента Республики Узбекистан ПП-2460 от 29 декабря 2015 года «О мерах по дальнейшему реформированию и развитию сельского хозяйства на период 2016-2020 годов», в Указе Президента Республики Узбекистан УП-4947 «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан» от 7 февраля 2017 года, в Указе Президента Республики Узбекистан УП-5024 «Об усовершенствовании государственной системы по охране окружающей среды и экологии» от 21 апреля 2017 года, в «Стратегии действий по пяти приоритетным направлениям развития Республики Узбекистан в 2017- 2021 годах» и в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики. Настоящая работа выполнена в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий Республики Узбекистан: VI. «Медицина и фармакология».

Обзор международных научных исследований по теме диссертации. Отрицательные эффекты воздействия пестицидов на организм человека разнообразны, и во всем мире проводятся многочисленные научные изыскания для решения этой глобальной проблемы. Эти работы ведутся в ведущих мировых научных центрах и высших учебных заведениях, в том числе National Institute of Environmental Health Sciences, University of Maryland, New York University, University of Illinois at Chicago, Colorado State University, University of Rochester, University of California, Harvard University, Emory University (США), University of Milan (Италия), Universitat de València (Испания), University of Turku (Финляндия), Ghent University (Бельгия),

⁴ Указ Президента Республики Узбекистан № УП-4947 «О Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан» от 7 февраля 2017 года

Imperial College London (Великобритания), University of Edinburgh (Англия), University of Pavia (Италия), University of Murcia (Испания), Pukong National University (Корея), Punjab Agricultural University (Индия), в Российской академии наук, в Байкальском национальном университете (Российская Федерация). За последние годы, в результате исследований по выявлению и снижению негативных последствий воздействия пестицидов на организм человека и животных, получен ряд важных научных результатов: разработаны современные методы для снижения частоты острого и хронического отравления пестицидами (University of Murcia); установлена безопасность применения 250 пестицидов (Colorado State University, University of Rochester Medical Center, University of California, Harvard University, Sinai Medical Center, Department of Environment and Health, Rollins School of Public Health at Emory University, США); разработаны современные методы для изучения токсического действия пестицидов, выявлены нарушения метаболических процессов в организме (Baikal Institute of Nature Management Siberian branch of the Russian Akademy of sciences, Российская Федерация); раскрыты свойства загрязнителей окружающей среды по их передаче через генетические механизмы, и увеличению восприимчивости к различным заболеваниям, посредством вызывания тех или иных эпигенетических нарушений (University of Milan, Италия, Universitat de València, Испания, University of Illinois at Chicago, США, University of Turku, Финляндия, Ghent University, Бельгия); обнаружено эндокрин-разрушающее действие у широко распространенных хлор- и фосфорорганических (ДДТ, хлорпирифос и др.) пестицидов, а также у более 100 широко распространенных пестицидов из класса пиретроидов, неоникотиноидов, пиретроидов и карбаматов (Imperial College London, National Centre for Environmental Toxicology, Великобритания; Bundes institut für Risikobewertung, Federal Environment Agency, Германия; Centre National de la Recherche Scientifique, Centre de Biophysique Moléculaire, Франция). Отрицательные свойства эндокрин-разрушающих пестицидов разнообразны и во многом еще недостаточно изучены. Разработкой данной глобальной проблемы занимаются ведущие научные центры и университеты различных стран мира, такие как National Institute of Environmental Health Sciences, National Exposure Research Laboratory, University of California, New York University (США); Institute of Environmental Medicine (Южная Корея); China Medical University, Shenyang (Китай). В них установлены отдельные механизмы развития токсического эффекта.

Разработаны токсикологические тесты, позволяющие определить остаточные количества эндокрин-разрушающих пестицидов и их метаболитов (National Centre for Environmental Toxicology, Великобритания); показано, что сохранение даже ничтожно малых концентраций пестицидов в воде, почве и пищевых продуктах представляет серьезный риск для здоровья человека и животных (Centre National de la Recherche Scientifique, Франция); разработаны способы определения пиретроидных пестицидов в воде, почве и воздухе в условиях жаркого климата и оценки степени их отрицательных

воздействий; определены некоторые механизмы эндокрин-разрушающего действия пестицидов на потомство в условиях их внутриутробного и раннего постнатального воздействия через организм матери (НИИ санитарии, гигиены и профессиональных заболеваний, Ташкентская медицинская академия, Узбекистан). Однако, конкретные механизмы действия ионов тяжелых металлов и других ксенобиотиков на молекулярном, клеточном и мембранном уровнях до конца не установлены. Вместе с тем необходимость изучения механизма токсического действия химического агента предусматривает исследование их эффектов на клеточном, субклеточном и молекулярном уровнях.

Степень изученности проблемы. Прогнозирование эффекта совместного влияния ряда токсических агентов на основе информации об их влиянии при изолированном воздействии затруднительно. В каждом конкретном случае требуются экспериментальные исследования. В настоящее время в области изучения механизмов действия абиотических соединений на уровне клетки и ее органелл достигнут существенный прогресс. Обнаружено, что некоторые пестициды и ионы тяжелых металлов аккумулируются в тканях млекопитающих и нарушают морфофункциональный статус клетки (Иванов С.Д. с соавт. 2003). Выяснилось мембранотропное влияние некоторых пестицидов (Кадиков И.Р., 2015).

Обнаружено, что окислительный стресс (ОС) играет главную роль при интоксикации организма тяжелыми металлами и различными пестицидами (WanL., 2012). Формирование свободных радикалов при этом, вызывает пероксидацию липидов, изменение клеточного гомеостаза Ca^{2+} , редокс-состояние тиоловых групп мембран, а также различные модификации дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Основой механизма токсического влияния тяжелых металлов на организм теплокровных является, возможно, совокупность всех этих негативных воздействий на клеточный метаболизм (Кадиков И.Р., 2015).

Имеется множество работ, посвященные механизму действия тяжелых металлов и пестицидов на организм человека и животных на уровне биологических мембран (Иванов С.Д. с соавт., 2003; Кучерко Н.И., 2007; Кадиков И.Р., 2015).

С точки зрения современной физико-химической биологии, в анализе токсического действия пестицидов особое место принадлежит их модифицирующему влиянию на структурно-функциональные свойства биологических мембран и клеточных органелл (Корнева Е.А. с соавт., 2005; Kondoh M. et al., 2002).

В настоящее время определен мембранообразный эффект некоторых пестицидов (Акиншина Н.Г., 2001). Обнаружено, что окислительный стресс (ОС) играет главную роль при интоксикации организма тяжелыми металлами (Dineley K.E., et al. 2003; Lewis C.P. et al., 2005). Формирование свободных радикалов вызывает пероксидацию липидов, изменение клеточного гомеостаза Ca^{2+} , редокс-состояние тиоловых групп мембран, а также

различные модификации дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК). Основой механизма токсического влияния тяжелых металлов на организм теплокровных является, возможно, совокупность всех этих негативных воздействий на клеточный метаболизм.

Имеется множество работ, посвященные механизму действия тяжелых металлов и пестицидов на организм человека и животных на уровне биологических мембран (Ибрагимова К.М., Алматов К.Т., 2003; Куценко С.А. 2003; Исмаилова А.А., Яковенко К.В., 2006). Однако, конкретные механизмы действия ионов тяжелых металлов и других ксенобиотиков на молекулярном, клеточном и мембранном уровнях до конца не изучены.

Однако по мере накопления опытных данных становится ясно, что современное гигиеническое нормирование имеет серьезные недостатки. Нет ясности в обоснованности действующих концентраций химических веществ, нуждаются в уточнении вопросы определения токсичности веществ на биологических моделях и о правомочности распространения этих данных на человека. Установление действующих концентраций отравляющих веществ, а также механизмы их токсического действия на организм также важны для токсикологии медицины. Повышение качества оценки экологического состояния внешней среды требует изучения действия на организм не отдельно взятых веществ, а в комплексах, как это в основном бывает в реальных условиях. Прогнозирование эффекта совместного влияния ряда токсических агентов, на основе информации об их влиянии при изолированном воздействии, крайне затруднительно. В каждом конкретном случае требуются экспериментальные исследования.

Влияние многих пестицидов и других загрязняющих веществ оценивается главным образом с токсикологических и санитарно-гигиенических точек зрения, а это оправдало себя в использовании в определенной области для регулирования. В настоящее время в странах СНГ установлены и действуют более 6000 разных гигиенических нормативов, которые определяют максимально допустимое количество различных ксенобиотиков для разных объектов окружающей среды. Но когда были собраны экспериментальные данные, стало ясно, что современная гигиена представляет собой ряд недочетов. Основа для фактической концентрации химических веществ неясна, есть необходимость уточнения токсичности веществ в биологических моделях и объяснение в способности человека использовать эту информацию. Фактическая концентрация ядовитых веществ, а также механизм их токсического воздействия на организм важны для токсикологии и медицины. Для повышения качества экологического состояния окружающей среды требуется изучение влияния их комплексов на организм, которое, скорее всего, будет происходить в реальных условиях, а не в отдельном веществе. Трудно предсказать совокупное воздействие ряда токсичных агентов на их состояние. В каждом конкретном случае требуются экспериментальные исследования.

Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ высшего образовательного или научно-

исследовательского учреждения, где выполнена диссертация. Диссертационная работа выполнена в рамках проектов Бухарского государственного медицинского института по плану научно-исследовательской работы № 05.2018.DSc.021 на тему «Разработка новых подходов по раннему выявлению, лечению и профилактике предпатологических и патологических случаев в Бухарском регионе» (2017–2021).

Цель исследования изучение морфометрических и ультраструктурных параметров печени и гепатоцитов при действии солей тяжелых металлов и некоторых дефолиантов при раздельном и совместном применении.

Задачи исследования:

изучение массового коэффициента печени крыс при действии солей тяжелых металлов – кадмия и свинца а также дефолиантов – бутилкаптокса и дроппа при раздельном и совместном применении;

изучение морфологических параметров гепатоцитов, внутрипеченочных сосудов и желчных путей в норме, при действии солей кадмия и свинца а также при действии дефолиантов бутилкаптокса и дроппа при раздельном и совместном применении;

изучение ультраструктуры гепатоцитов в норме, при действии солей кадмия и свинца а также при действии дефолиантов бутилкаптокса и дроппа при раздельном и совместном применении;

изучение раздельного и комбинированного введения солей кадмия и свинца на функциональное состояние митохондрий печени;

исследование тканевого и субклеточного распределения некоторых пестицидов в организме животных;

комплексное изучение действия дефолиантов в условиях *insitu* и *in vitro* на энергетический обмен и проницаемость мембран митохондрий клеток животных тканей.

Объектом исследования являются печень крысы, гепатоциты и мембранные структуры (митохондрий).

Предметом исследования явились морфофункциональное состояние гепатоцитов и клеточных структур в условиях различных отравлений организма пестицидами и тяжелыми металлами.

Методы исследования. В настоящей диссертационной работе использованы современные методы морфологии, биохимии, биофизики, клеточной биологии, вариационной статистики.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

впервые исследован массовый коэффициент печени крысы при действии на нее солей кадмия и свинца, а также при действии дефолиантов бутилкаптокса и дроппа при раздельном и совместном применении;

впервые исследованы ультраструктурные изменения в ткани печени и функциональном состоянии митохондрий при интоксикации животных солями тяжелых металлов и пестицидов при их раздельном и сочетаемом введении;

показано, что наиболее уязвимыми ультраструктурами печени при действии токсикантов являются митохондрий и эндоплазматическая сеть. С применением меченых дефолиантов (дропп, бутылкаптакс) обнаружено наибольшее накопление метки в этих ультраструктурах;

установлено, что в случае сочетанного введения животным препаратов свинца и кадмия на уровне ультраструктурных изменений гепатоцитов и сдвигов в функциональном состоянии митохондрий реализуется взаимный синергизм этих токсикантов с преобладанием признаков, присущих действию солей свинца;

обнаружена специфика изменений ультраструктуры гепатоцитов при сочетанном введении дефолиантов и соли свинца, которая, как правило, не повторяет ту перестройку структуры, которую индуцирует отдельное введение токсикантов;

выявлена корреляция токсикологических характеристик дефолиантов с их модифицирующим действием в условиях *in vitro* на проницаемость мембран митохондрий печени крысы.

Практические результаты исследования:

Практическое значение имеет описанный в диссертации факт взаимоусиления влияния токсических соединений на структурно-функциональное состояние ткани печени и внутриклеточных мембранных образований. Совместное действие органических и неорганических соединений на организм оказывает существенно более сильное воздействие, чем их отдельное введение, поскольку они способны усиливать эффективность друг друга. Строгое соблюдение предельно допустимых концентраций (ПДК) для каждого из токсикантов в отдельности, в условиях одномоментного контакта человека с несколькими из них, может приводить к грубым нарушениям структуры и функции клеток, а в конечном счете к возникновению патологического состояния, профессиональных заболеваний и т.д. Полученные в настоящей работе данные следует учитывать при развитии стратегии адекватного подхода к разработке санитарных и гигиенических норм в условиях контакта людей и животных с промышленными токсинами и ядохимикатами в различном сочетании.

Достоверность результатов исследования. Исследования проведены с использованием современных морфологических методов и средств. Все цифровые данные статистически обработаны. Результаты научных исследований внедрены в судебно-химических и ветеринарных лабораториях.

Научное и практическое значение результатов исследования.

Научная значимость заключается в том, что впервые исследованы ультраструктурные изменения в ткани печени и функциональном состоянии Мх при интоксикации животных солями тяжелых металлов и пестицидов при их отдельном и сочетаемом введении. Показано, что наиболее уязвимыми ультраструктурами печени при действии токсикантов являются Мх и эндоплазматическая сеть. В случае сочетаемого введения животным препаратов свинца и кадмия на уровне ультраструктурных изменений

гепатоцитов и сдвигов в функциональном состоянии Мх реализуется взаимный синергизм этих токсикантов с преобладанием признаков, присущих действию солей свинца.

Практическая значимость заключается в том, что совместное действие органических и неорганических соединений на организм оказывает более сильное воздействие, чем их раздельное введение, поскольку они способны усиливать эффективность друг друга. Нужно учесть, что соблюдение ПДК в условиях одномоментного контакта человека с несколькими пестицидами приводит к нарушениям структуры и функции клеток и к возникновению патологического состояния.

Внедрение результатов исследования. На основании полученных результатов по изучению морфометрических и ультраструктурных параметров печени и гепатоцитов при действии солей тяжелых металлов и некоторых дефолиантов при раздельном и совместном применении:

утверждены методические рекомендации на тему: «Методика изучения ультраструктурного строения клеток печени при введении в организм солей тяжелых металлов» (справка Министерства здравоохранения №8н-р/139 от 09 июня 2020 года). Данная методическая рекомендация дала возможность изучению ультраструктурного строения клеток печени при введении в организм солей тяжелых металлов;

утверждены методические рекомендации на тему: «Методика изучения структурного статуса гепатоцитов при совместном введении животным дроппа и свинца» (справка Министерства здравоохранения №8н-р/140 от 09 июня 2020 года). Данная методическая рекомендация дала возможность изучению структурного статуса гепатоцитов при совместном введении животным дроппа и свинца;

утверждены методические рекомендации на тему: «Методика изучения морфофункционального состояния клеточных структур при действии пестицидов» (справка Министерства здравоохранения №8н-р/141 от 09 июня 2020 года). Данная методическая рекомендация дала возможность изучению морфофункционального состояния клеточных структур при действии пестицидов;

Результаты диссертации внедрены в судебно-химическую лабораторию Бухарского областного бюро Судебно-медицинской экспертизы, Бухарского областного бюро патологической анатомии (Заключение Министерства здравоохранения РУз №8 н-д/62 от 9.06.2020 года). Результаты разработки, по установлению наличия малых доз пестицидов и солей тяжелых металлов в биологических объектах с использованием тонкослойной газожидкостной хроматографии в процессе проведения судебно-медицинской экспертизы, позволяют установить причину возможных патологических изменений в организме исследуемого, что даёт возможность повысить эффективность диагностики отравлений человека с целью оказания своевременной помощи и лечения пострадавшего, или установить причину смерти человека.

Апробация результатов исследования. Результаты данного исследования были обсуждены на 2 международных и 6 республиканских научно-практических конференциях.

Публикация результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 31 научных работ, из них 11 журнальных статей – 7 в республиканских и 4 в зарубежных научно-практических изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов докторских диссертаций.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка использованной литературы. Объём диссертации составляет 182 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

В части «**Введение**» обоснованы актуальность и востребованность исследований, охарактеризованы цель и задачи, объекты и предмет исследования, указано соответствие темы приоритетному направлению развития науки и техники республики, даны научная новизна и практические результаты, приведены сведения о внедрении результатов исследования в ветеринарных и судебно-химических лабораториях, публикациях и структуре диссертации.

В первой главе диссертации «**Обзор литературы**» приводится краткая характеристика научно-исследовательских работ учёных нашей республики и зарубежья по воздействию экотоксикантов на живой организм, о влиянии пестицидов на организм теплокровных, клеточные основы влияния тяжелых металлов на организм, о влиянии свинца и кадмия на организм человека и животных. Анализ литературных данных показывает неполноту изученности воздействия пестицидов и солей тяжелых металлов на клеточных структур живого организма.

Во второй главе диссертации «**Материал и методы исследования**» описаны основные методы и объекты, использованные в работе. Для выявления действия ряда токсикантов на морфометрические параметры клеток печени и на ультраструктуру структурных компонентов гепатоцитов были проведены эксперименты на 144 белых крыс-самцов линии Вистар, массой не менее 120 г. В зависимости от используемых токсических веществ, все животные были разделены на шесть основных групп.

При проведении экспериментов основывались на положениях Хельсинкской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации от 1964 г., дополненной в 1975, 1983, 1989, 1996, 2000, 2002, 2004, 2008, 2013 гг.

Забой животных осуществлялись методом мгновенной декапитации в сроки от 3 до 24 часов после введения препаратов или их смеси.

Группа I – контрольная. Крысам контрольной группы металлическим зондом внутрижелудочно вводили дистиллированную воду в объёме 0,5 мл.

Группа II (действие солей тяжелых металлов):

1) раствор $CdSO_4$ в концентрации 5 мг/мл и дозе 0,4 мл/100 г массы животного, однократно, внутривентриально;

2) раствор $Pb(CH_3COO)_2$ в концентрации 10 мг/мл и дозе 0,6 мл/100 г массы животного, однократно, внутривентриально.

Группа III. (действие пестицидов):

1) бутилкаптакс в дозе 0,13 г/100 г массы животного, однократно, внутривентриально;

2) дропп в дозе 0,4 г/100 г массы животного, однократно, внутривентриально.

Группа IV. Сочетанное введение солей свинца и кадмия - растворы солей в концентрации по 2 мг/мл и дозе смеси 0,5 мл/100 г массы животного, однократно, внутривентриально;

Группа V. Сочетанное введение дроппа и соли свинца;

Группа VI. Сочетанное введение бутилкаптакса и соли свинца.

Перед забоем измеряли массу крыс, затем, после вскрытия брюшной полости, извлекали печень и измеряли массу органа.

Для оптической микроскопии кусочки ткани печени, взятые из правой доли, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. После промывки и дегидратации в спиртах возрастающей концентрации, кусочки заливались парафином и готовились срезы толщиной 5-7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Срезы исследовали морфометрически, с помощью окуляр-микрометра DN-107T/ Модель NLCD-307B (Novel, Китай) измеряли размеры гепатоцитов, объём ядер гепатоцитов, диаметр центральных вен, диаметр артериолы, венулы и желчного протока в области триады. Также измеряли размеры эпителиальных клеток желчных протоков. Изучали соотношение гепатоцитов с двумя ядрами по отношению к гепатоцитам с одним ядром.

Для трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) ткань печени размером не более 1,5x1,5 мм фиксировали в течение 2 часов в 2,5% растворе глутарового альдегида на фосфатном буфере (рН 7,4), с последующей дофиксацией в течение 1 часа в 1 % растворе осмиевой кислоты. После обезвоживания ткани в растворах ацетона возрастающей концентрации, материал заливался в смесь эпон-аралдит.

Полутонкие (1 мкм) и ультратонкие срезы изготавливались на ультрамикротоме «ЛКВ-III» и «Ultracut». Полутонкие срезы окрашивали смесью метиленового синего - фуксина и пиронина G. Ультратонкие срезы контрастировали уранилацетатом свинца (микропроцессор «Ultra-stainer»), просматривали и фотографировали в электронном трансмиссионном микроскопе «HitachiH-600». Электронную микроскопию провели в лаборатории патоморфологии Республиканского центра хирургии им. В. Вохидова (зав. лаб. д.м.н., проф. И.М. Байбеков).

Митохондрии (Mx) выделяли методом дифференциального центрифугирования. Крыс (самцы массой 120-150 г) забивали декапитацией, извлекали печень и помещали в стаканчик с ледяной средой выделения (CB), содержащей 250 мМ сахарозы и 10 мМ трис-хлорида (рН

7,4). После охлаждения и определения массы, печень вынимали, подсушивали между листками фильтровальной бумаги и продавливали через специальный пресс, изготовленный из нержавеющей стали. Полученную кашу гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком в 7-8-кратном объеме СВ.

Ядра и не разрушенные клетки осаждали центрифугированием гомогената при 6000g в течение 15 мин. Фракцию Мх получали при центрифугировании супернатанта при 5000g в течение 15 мин. Осадок Мх снова суспендировали в СВ (4-5 кратный объем по отношению к исходной массе ткани) и центрифугировали при 5500g 15 мин. Конечный осадок Мх ресуспендировали в СВ из расчета, чтобы 1 мл суспензии содержал 70-100 мг белка Мх. В течение опыта (4-5 часов) полученная суспензия хранилась на ледяной ванне.

Одним из основных параметров, характеризующих обменные процессы изолированных Мх, является состояние ОФ. Для его измерения наиболее часто используют полярографический метод. Наряду с ОФ в полярографических экспериментах был исследован и транспорт Ca^{2+} .

Скорость окисления субстратов митохондриями измеряли при помощи полярографа LP-7 (производство ЧССР, 1989г) с использованием закрытого платинового электрода типа Кларка при температуре 26 °С. Скорость дыхания в метаболическом состоянии 4 (состояние покоя) и 3 (дыхание, активированное добавлением АДФ), а также величины дыхательного контроля и АДФ/О определяли по методу Чанса, исходя из того, что количество кислорода в 0,5 мл СИ при 26 °С составляет 250 мкг-атом кислорода. Состав СИ: 120 мМКСI, 5 мМ сукцинат или смесь глутамат/малат по 5 мМ, 10 мМ трис-НСI, 1 мМ фосфат калия, рН 7,1. В случае использования сукцината в качестве субстрата окисления в среду вносили ротенон, для предотвращения накопления щавелевоуксусной кислоты (ЩУК) - конкурентного ингибитора окисления сукцината.

В опытах на полярографе с вращающимся открытым электродом СИ объемом 1 мл содержала 100 мМ сахарозы, 75 мМКСI, 10 мМ сукцината, 10 мМ трис-хлорида (рН=7,4) и 2,5 мМ K_2HPO_4 . Белок Мх в ячейке – 3-4 мг/мл, температура комнатная.

Транспорт Ca^{2+} в митохондриях печени исследовали потенциометрически с использованием Ca^{2+} - селективного электрода, марки ЗМ-Са (Тбилприбор). Установка для регистрации малых сдвигов концентрации Ca^{2+} состояла из электродного блока, закрепленного на штативе магнитной мешалки, рН-метра, к выходу которого подключали самописец КСП-4. Измерения проводили в стеклянных кюветах из оптического стекла при непрерывном перемешивании среды. СИ объемом 4 мл содержала 125 мМ сахарозу, 60 мМКСI, 10 мМ сукцината и 5 мМ трис-хлорида (рН=7,4). Мх вносили в среду из расчета 2-3 мг белка/мл, Ca^{2+} - в виде добавок, CaCl_2 по 200 нмоль, систему калибровали стандартным раствором CaCl_2 .

Эндогенное ПОЛ гомогената печени крыс индуцировали в СИ, содержащей 145 мМКСI, 25 мМ трис-НСI, рН 7,4. Содержание белка

составляло 20 мг на 1 мл СИ (100мМ КСl, 10 мМ трис, рН 7,0). Реакцию останавливали 0,2 мл 70 % ТХУК, осадок удаляли центрифугированием в течение 15 минут при 6000-8000 об/мин.

Смешивали 2 мл над осадочной жидкости и 1 мл 0,7 % ТБК. Смесь нагревали при 100 °С в течение 15 минут. Интенсивность окраски измеряли спектрофотометрически при 535 нм. Количество образовавшихся ТБК – активных продуктов определяли пользуясь табличным значением коэффициента молярной экстинкции.

Содержание белка Мх определяли колориметрически по биуретовому метод. Для разрушения мембран Мх к 0,1 мл суспензии Мх добавляли 0,9 мл 2 н КОН+10 мг дезоксихолата. После полного растворения белка Мх, добавляли 4 мл биуретового реактива и оставляли при комнатной температуре на 30 мин. Одновременно готовили контрольную пробу (1 мл 2 н КОН+10 мг дезоксихолата + 4 мл биуретового реактива), калориметрировали при 540 нм в кюветах толщиной 10 мм. Содержание белка Мх определяли по калибровочной кривой, полученной калориметрированием стандартов бычьего сывороточного альбумина.

В работе были использованы соли тяжелых металлов (Н.Н.Степанченко, лаб.химии природных соединений НУУ им. Мирзо Улугбека) и дефолианты (Г.Г.Галустьян, Институт химии растительных веществ АН РУ).

Полученные при исследовании данные подвергали статистической обработке на ЭВМ на базе процессора «PentiumIV» с помощью пакета программ MicrosoftOfficeExcel - 2007, включая использование встроенных функций статистической обработки. Уровень достоверности статистических изменений характера рассматривался как $P < 0,05$.

В третьей главе «Морфометрические параметры структурных элементов печени в норме, при воздействии солей тяжелых металлов и пестицидов» диссертации приведены морфометрические параметры структурных элементов печени в норме, при раздельном воздействии солей тяжелых металлов и дефолиантов, так и при совместном воздействии соли свинца, соли кадмия, дефолиантов бутилкаптокса и дроппа через 3 и 24 часа.

Масса крыс контрольной группы варьировалась от 120г до 139,5г, в среднем - $127,6 \pm 3,45$ г.

Масса печени контрольной группы крыс колеблется от 7,2г до 9,1г., в среднем – $8,45 \pm 0,34$ г. Массовый коэффициент в среднем составляет - $6,62 \pm 0,18\%$.

Печень снаружи покрыта соединительнотканной капсулой, которая проникая в паренхиму печени, образует дольчатую и балочную структуру. Дольчатый вид хорошо различим, только в области порталных трактов. Как и у человека, у крыс дольки не разделены между собой фиброзными прослойками. Границами долек являются условные линии, проводимые между порталными трактами. В пределах долек относительно правильными рядами размещаются печеночные клетки, гепатоциты, формируя двухрядные

радиальные печеночные пластинки. Поперечный размер гепатоцитов (расстояние от центра одного ядра гепатоцитов до центра ядра близлежащего ядра другого гепатоцита) варьируют от 20,0 до 27,0 мкм, в среднем – $24,3 \pm 0,43$ мкм. Они имеют многоугольную форму с хорошо различимыми границами. Цитоплазма амфотильная, гранулярная. В перинуклеарной зоне и со стороны синусоидального полюса, на фоне сравнительно бледно окрашенной цитоплазмы имеются скопления мелкозернистого базофильного материала, соответствующего зернистой эндоплазматической сети.

Показатели средней площади сечения цитоплазмы гепатоцитов колеблются от $400,0 \text{ мкм}^2$ до $729,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $590,5 \pm 20,4 \text{ мкм}^2$.

Ядра гепатоцитов расположены центрально, содержат одно или два хорошо различимых ядрышка, варьируют по величине и форме, чаще округлы. Расположены ядра обычно в центре печеночных клеток, но могут быть смещены на их периферию. Подавляющее большинство гепатоцитов одноядерные, наряду с ними встречаются двуядерные гепатоциты. Перипортальные гепатоциты несколько меньше по размерам, ядра их гиперхромнее, а цитоплазма более базофильна. Количество двуядерных гепатоцитов на 100 гепатоцитов находится в пределах 8-20, в среднем $15,2 \pm 0,74$.

Показатели площади сечения ядер гепатоцитов контрольной группы крыс находятся в пределах от $100,0 \text{ мкм}^2$ до $141,0 \text{ мкм}^2$, в среднем – $118,6 \pm 2,54 \text{ мкм}^2$.

В центре печеночных долек расположены центральные вены, являющиеся начальным звеном печеночных вен. Диаметр центральных вен колеблется от 48,0 до 76,0 мкм, в среднем – $60,55 \pm 1,74$ мкм. По периферии долек локализуются портальные тракты, в состав которых входят артерия, вена и желчный проток.

Междольковые вены имеют диаметр от 21,0 до 35,0 мкм, в среднем – $29,12 \pm 0,868$ мкм. Эти вены отдают множество меньших по диаметру ветвей, которые, в конечном счете, переходя в венулы, распадаются на сети синусоидных капилляров, образующих емкостное лабиринтоподобное микрососудистое русло печеночной дольки. Междольковые артерии большую часть своих ветвей отдают на кровоснабжение желчных протоков, участвуя в формировании перибилиарных сплетений, плотность которых увеличивается по мере возрастания диаметра желчных протоков.

Диаметр междольковых артерий колеблется от 9,8 до 16,0 мкм, в среднем $13,88 \pm 0,38$ мкм. Диаметр междольковых артерий (в 2 раза и более) меньше диаметра междольковых вен. Меньшая часть терминальных артерий, переходя в артериолы, принимает участие в формировании синусоидальных сосудов.

Кадмий используется в производстве защитных гальванических покрытий, в электротехнической и атомной промышленности. Соли кадмия в некоторых странах используется как антигельминтные и антисептические препараты в ветеринарии.

Отравления кадмием в основном связаны с промышленными загрязнениями; накопление кадмий содержащих предметов (батареи, сплавы, краски) загрязняют питьевую воду и воздух. Промышленные фосфатные удобрения и навоз также содержат кадмий. Сигаретный дым – значительный источник загрязнения кадмием: в 20 сигаретах содержится 15-18 мкг кадмия. Еще один источник кадмиевой интоксикации – употребление в пищу продуктов моря.

Проведенное исследование морфологии ткани печени после введения животным соли кадмия, общая структура ее не подвержена дискомплексации. К соли кадмия печень отвечает с незначительными изменениями морфометрических параметров гепатоцитов, их ядер, а также размеров диаметра внутрипеченочных сосудов, особенно синусоидных гемокапилляров. В ранние сроки эксперимента (через 3 часа) реакция морфометрических параметров структурных элементов печени более выражена, по сравнению с поздним сроком, (24 часа), кроме увеличения числа двуядерных гепатоцитов (рис.1).

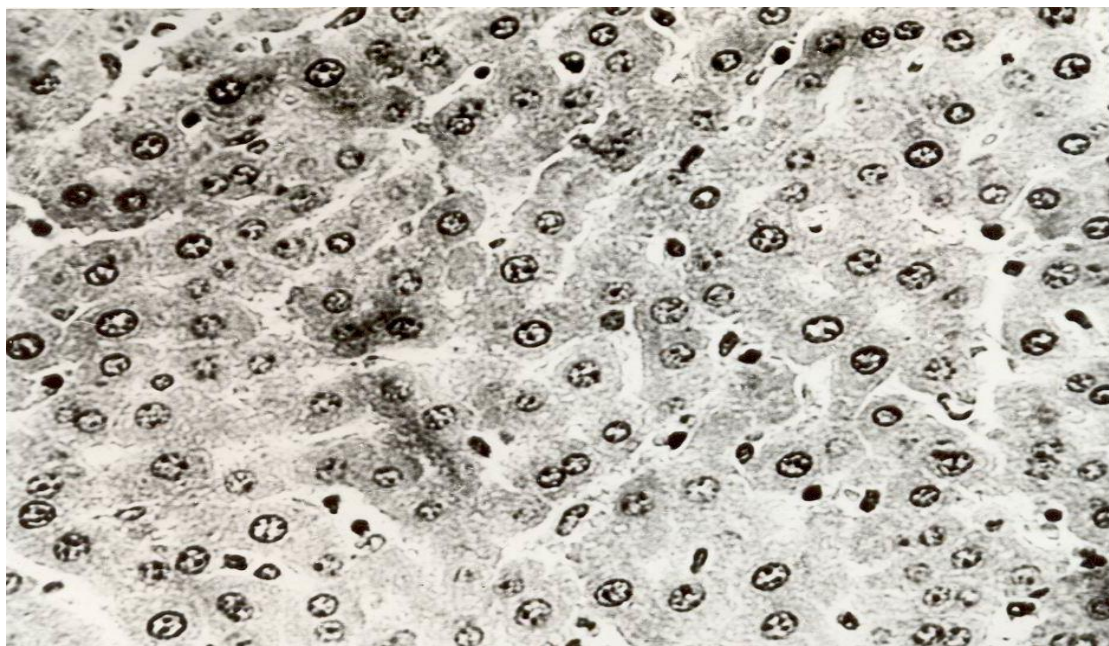


Рисунок 1. Ткань печени крыс через 24 часа после введения соли кадмия. Архитектоника печеночных балок нормализована. Окраска гематоксилином эозином.СМ. Ок.7хоб. 40.

Интересные данные получены при исследовании воздействия солей свинца на печень.

Масса крыс при воздействии солей свинца также достоверно не изменяется. За счёт увеличения массы печени ($8,90 \pm 0,65$ г.) массовый коэффициент в среднем составляет $-6,95 \pm 0,18\%$ (одинаковый показатель при 3 и 24 часа после воздействия). Это свидетельствует о том, что токсические свойства солей свинца почти не проходят через 24 часа, чем токсические воздействия солей кадмия, свойства которых постепенно уменьшаются через

24 часа. При воздействии солей свинца наблюдается увеличение размеров гепатоцитов. Увеличивается ядерно - цитоплазматический индекс (рис. 2).

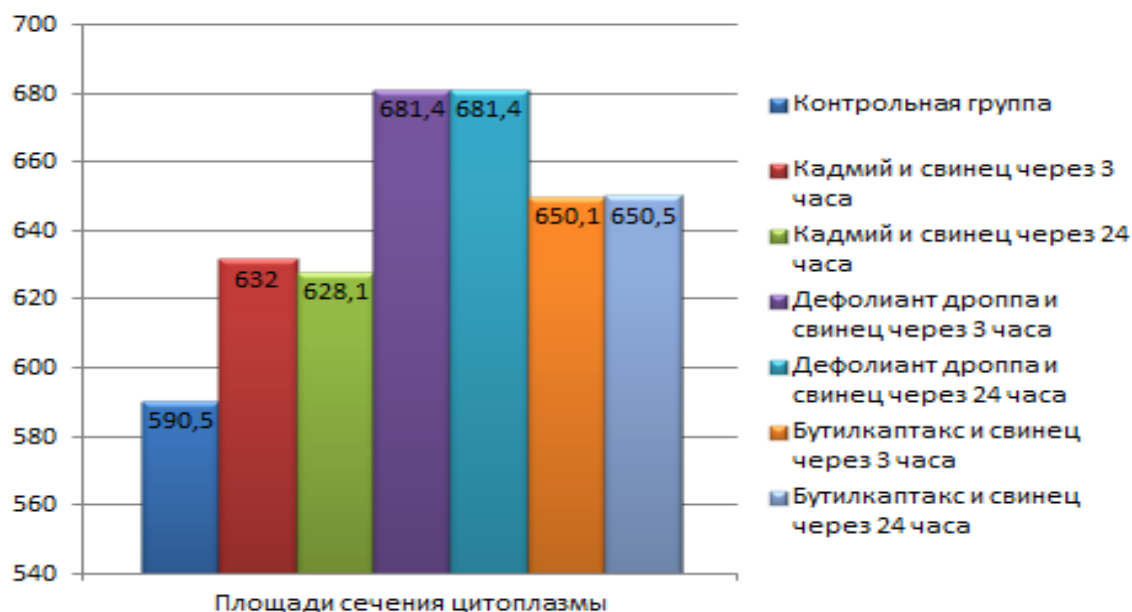


Рис.2. Морфометрическая характеристика площади сечения цитоплазмы гепатоцитов в норме, при сочетанном введении солей тяжёлых металлов и дефолеантов

При воздействии солей свинца, через 3 часа наблюдается увеличение диаметра центральных вен, междольковых вен, а также незначительное увеличение диаметра междольковых артерий и желчных протоков. Синусоидные капилляры ориентированы преимущественно в радиальном направлении к центру долек, где впадают в центральные вены. Синусоидные капилляры находятся в состоянии полнокровия.

Через 24 часа после введения свинца, светооптически отмечались изменения морфологического статуса гепатоцитов, которые можно квалифицировать как нормализацию структуры. В умеренной степени снижался уровень полнокровия синусоидных капилляров, центральных вен и сосудов портальных трактов. Следствием нормализации этой внутриклеточной мембранной структуры являлось некоторое увеличение содержания зерен гликогена в цитоплазме.

Исследованием установлено, что при введении животным солей свинца, печень отвечает более выраженными морфометрическими изменениями по сравнению с воздействием кадмия. Изменяются морфометрические параметры гепатоцитов, их ядер а также размеров диаметра внутрипеченочных сосудов, особенно синусоидных гемокapилляров.

Исследованием установлено, что при введении животным бутылкаптакса, печень отвечает более выраженными морфометрическими изменениями, чем при воздействии на нее солями тяжелых металлов.

Изменяются морфометрические параметры гепатоцитов, их ядер а также размеров диаметра внутрипеченочных сосудов, особенно синусоидных гемокапилляров. В ранние сроки эксперимента (через 3 часа), реакция морфометрических параметров структурных элементов печени менее выражена, по сравнению (через 24 часа после введения бутылкаптакса) с поздними сроками эксперимента.

Через 3 часа после введения животным дефолианта дроппа балочное строение печени сохранено. Ядра гепатоцитов примерно одинаковых размеров, умеренно гипохромны. Наблюдается умеренное расширение просвета синусоидных капилляров. Пересинусовидные пространства не визуализируются. Среди элементов выстилки синусоидных капилляров нередко встречаются звездчатые ретикулоэндотелиоциты с увеличенными, гиперхромными ядрами. Цитоплазма гепатоцитов несколько просветлена, имеет слабую зернистость.

Печеночные клетки несколько уменьшены в размерах, расширены и отёчны межклеточные промежутки. Гепатоциты имеют мозаичность относительно степени пораженности: в одних выражена зернистость, а в других наблюдается выраженное просветление цитоплазмы.

Желчные капилляры расширены, в просветах присутствуют тонкие микроворсинки. Нередки в цитоплазме скопления липофусцина и компонентов желчи. Первый локализуется диффузно в цитоплазме, второй – в билиарной зоне.

Сравнительно с 3 часовым интервалом, после введения животным дефолианта дропп, через сутки наблюдаются более обширные и выраженные изменения в структурном статусе гепатоцитов, свидетельствующие о существенном поражении энергетических биосинтетических и секреторных процессов.

При сочетанном введении соли кадмия и соли свинца массовый коэффициент печени одинаков, как при свинцовом отравлении ($7,1 \pm 0,35\%$ и $6,95 \pm 0,35\%$). Также почти одинаково изменяется размер и площадь гепатоцитов, размер ядер и ядерно-цитоплазматический индекс.

В сосудах печени отмечаются более выраженные изменения (через 3 часа) при сочетанном введении соли кадмия и соли свинца, по сравнению с введением только соли свинца.

Светооптически отмечается значительное полнокровие центральных вен, синусоидных капилляров и сосудов портальных трактов. В цитоплазме определяется выраженная вакуольная дистрофия, ядра печеночных клеток полиморфны по размерам и хромотропности.

Совместное введение двух токсикантов (соли кадмия и свинца) приводит к их взаимно потенцирующему эффекту в отношении поражения структурных компонентов печени. В связи с этим представляет определенный интерес дальнейшее исследование данного взаимовлияния на примере совместного введения животным дроппа и соли свинца. Через 3 часа после сочетанного введения животным дроппа и свинца, светооптически, в печени наблюдается сохранность балочного строения паренхимии. Умеренно

полнокровны сосуды портальных трактов, синусоидные капилляры, а также центральные вены. Характерным признаком при такой постановке экспериментов является появление слабых лимфоидноклеточных инфильтратов портальных трактов, местами – с проникновением в паренхиму. Г

При исследовании ткани печени в световом микроскопе, через 3 часа после сочетанного введения животным бутилкаптакса и свинца, массовый коэффициент печени через 3 часа ($7,25 \pm 0,35\%$) и через 24 часа ($7,16 \pm 0,35\%$) больше, по сравнению с раздельным введением бутилкаптокса ($7,15 \pm 0,35\%$ через 24 часа) и соли свинца ($7,1 \pm 0,35\%$ через 3 часа).

В четвёртой главе “Ультраструктура гепатоцитов и клеточных структур в норме и при воздействии солей тяжелых металлов” приведены данные о ультраструктурном строении гепатоцитов и клеточных структур в норме и при воздействии солей тяжелых металлов.

После введения в организм соли кадмия через сутки в гепатоцитах обнаруживаются признаки более высоких темпов восстановления внутриклеточных ультраструктур. Наиболее уязвимыми ультраструктурами при свинцовой интоксикации в ранние сроки, являются Мх. Последние подвержены количественному уменьшению и деструкции различной степени выраженности (рис.3).

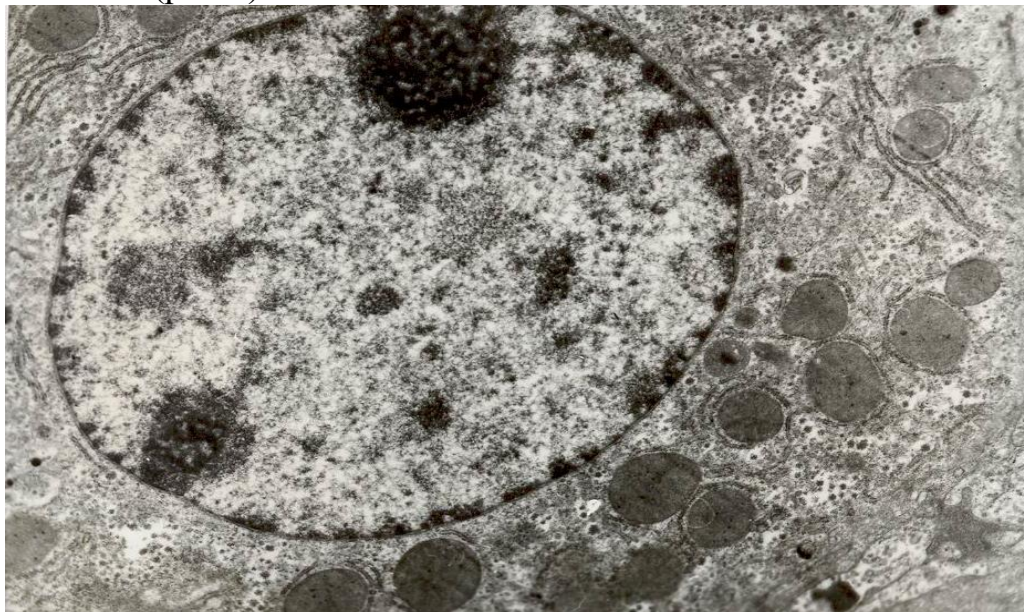


Рисунок 3. Ткань печени крысы через 24 часа после введения свинца. Гепатоцит с двумя хорошо визуализированными ядрышками. Митохондрии отёчны. ТЭМ. Ув.х 12 000

Сочетанное введение данных солей приводит к их взаимнопотенцирующему эффекту, вызывая патологические нарушения в ультраструктуре гепатоцитов, и прежде всего - в тех компонентах, которые ответственны за осуществление биоэнергетических и биосинтетических функций. Отмечается выраженное снижение электронной плотности

хроматина ядер, с уменьшением его конденсированного компонента. Мх увеличены в размерах, матрикс их несколько просветлен, значительно возрастает количество крист. Сокращается протяженность профилей гладкой и гранулярной эндоплазматических сетей, в цитоплазме практически отсутствует зерна гликогена.

В пятой главе **“Ультраструктура гепатоцитов и клеточных структур при воздействии пестицидов и при совместном введении солей тяжелых металлов”** приведены данные о морфологических изменениях в печени и ультраструктурных изменений гепатоцитов и клеточных структур при воздействии дефолиантов и при совместном введении солей тяжелых металлов.

При введении бутилкаптакса крысам, через 3 часа патологические изменения в структуре печени были мало выражены и заключались в умеренном полнокровии синусоидных капилляров и центральных вен. Преимущественно в центральных долек, в цитоплазме гепатоцитов наблюдалась мельковакуолярная дистрофия. В данной группе животных также отмечалась активация элементов ретикулоэндотелиальной системы печени.

В ядрах гепатоцитов, через 3 часа после введения животным бутилкаптакса, снижалось содержание хроматина, с умеренной тенденцией его к маргинации. Перинуклеарные пространства и ядерные поры узкие, размеры ядер варьировались. Основные изменения патологического характера касались Мх и эндоплазматической сети. Мх были различной величины, в них превалировала палочковидная форма, несколько увеличенная в размерах. Матрикс был значительно просветлен, в части Мх просматривались кристы, притом в состоянии гиперплазии, гликогеновых включениях в цитоплазме (рис. 4).

Гранулярная эндоплазматическая сеть, через 3 часа после введения животным бутилкаптакса, стала значительно редуцирована количественно, частично фрагментирована, наблюдалось сниженное содержание ассоциированных с мембранами рибоса. Гладкая эндоплазматическая сеть локальна с расширением профилей. В цитоплазме было умеренно снижено содержание гликогена, имеющегося в наличии, расположенного равномерно на площади среза клетки.

Нередко в билиарных полюсах печеночных клеток можно наблюдать скопления липофусцина и компонентов желчи.

Отмеченное выше изменение морфологического статуса гепатоцитов продолжает развиваться и по истечении 24 часов после введения бутилкаптакса. В частности, светооптически общее, характерное для печени строение паренхимы сохранено, ядра гепатоцитов незначительно отличаются в диаметре. Для микроциркуляторного русла печени, в данной экспериментальной группе, характерно неравномерное полнокровие синусоидных капилляров. Для цитоплазмы гепатоцитов через 24 часа после введения животным бутилкаптакса характерна зернистость различной

степени выраженности, местами мелкая вакуолизация. В перипортальных зонах наблюдается слабо выраженный отёк.

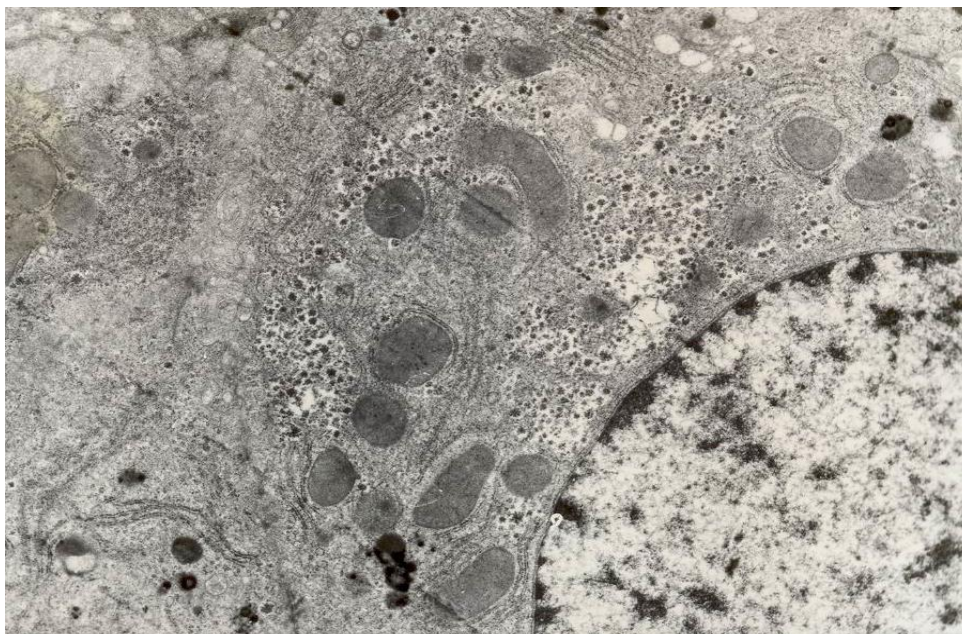


Рисунок 4. Ткань печени крыс при введении бутилкаптакса. Митохондрии гепатоцита с различной электронной плотностью. Включения гликогена в цитоплазме. ТЭМ. Ув. x 14 000

При ультраструктурном исследовании гепатоцитов, через 24 часа после введения животным бутилкаптакса, выявляются ядра со сниженным количеством хроматина, особенно его конденсированной части. Ядра содержат 1-2 ядрышка, размеры которых уменьшены. Единичные печеночные клетки содержат ядра в состоянии пикноза. Мх количественно уменьшены, преимущественно палочковидной формы. В части гепатоцитов наблюдается значительная плотность матрикса, в другой части – умеренное увеличение электронной плотности. Однако ни в одном, ни в другом случае кристы не выявляются. Зернистая эндоплазматическая сеть подвержена сокращению, со снижением количества связанных с мембранами рибосом. Профили гладкой эндоплазматической сети расширены. Гликогена в цитоплазме очень мало. Синусоидные капилляры неравномерно расширены, перисинусоидные пространства также различной величины.

Ядра гепатоцитов, при электронномикроскопическом исследовании через 3 часа после введения дроппа, имеют ослабленную электронную плотность хроматина, особенно это касается его конденсированной части. Ядрышки преимущественно мелкие, часть клеток содержит их по два. Имеются мелкие внутриядерные включения, локализованные вблизи ядерной оболочки. Основная масса Мх небольших размеров, чаще палочковидной формы, с выраженным электронным уплотнением матрикса. Кристы в них визуализируются редко. Цитоплазматический матрикс клеток, через 3 часа после введения животным дроппа, несколько разрыхлен. Мало лизосом как первичных, так и аутофагосом.

Сравнительно с 3 часовым интервалом после введения животным дефолианта дроппа, через сутки наблюдаются более обширные и выраженные изменения в структурном статусе гепатоцитов, свидетельствующие о существенном поражении энергетических биосинтетических и секреторных процессов.

Через 3 часа, после сочетанного введения животным дроппа и свинца, ядра гепатоцитов с очень слабым полиморфизмом, цитоплазма местами содержит слабую зернистость на фоне общего просветления цитоплазмы. Митохондрия гепатоцитов имеют преимущественно уменьшенный диаметр, смешанную форму. Матрикс их умеренно уплотнен, кристы практически не определяются. Зернистая эндоплазматическая сеть количественно сокращена, частично фрагментирована и вакуолизирована. Значительно снижено количество гликогена. Через 24 часа после сочетанного введения животным препаратов свинца и дроппа, выявляются ядра округлой формы, которые бедны хроматином и содержат преимущественно по одному ядрышку. В цитоплазме очень мало лизосом, еще меньше аутофагосом. Синусоидные капилляры неравномерной величины, перисинусоидные пространства расширены и заполнены редкими, короткими микроворсинками (рис.5).

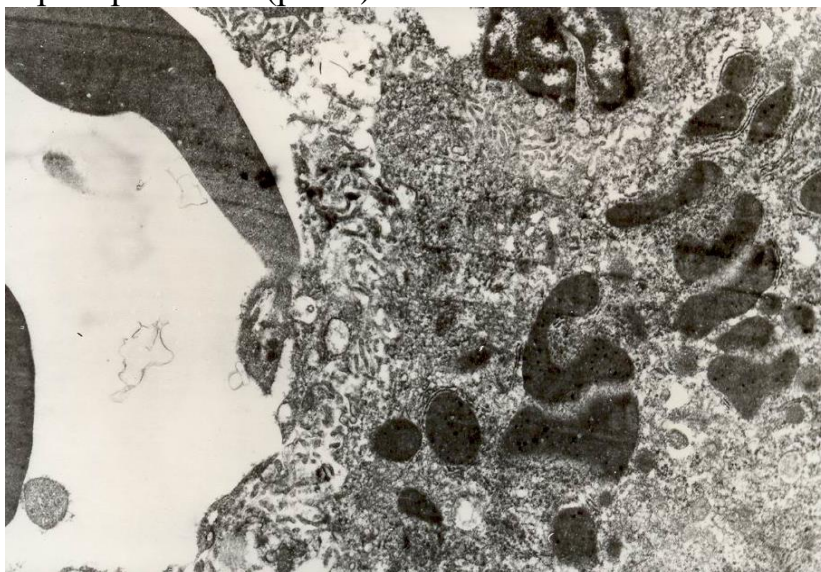


Рисунок 5. Ткань печени крыс после 24 часа после совместного введения дроппа и свинца. Отечность перисинусоидного пространства, разрыхленность микроворсинок гепатоцита. ТЭМ. Ув. x 14 000

Сочетанное введение животным бутылкапакса и свинца приводит к более тяжким патологическим изменениям структурного статуса гепатоцитов, чем раздельное введение. Кроме того, следует отметить, что наблюдающиеся изменения ультраструктуры гепатоцитов, через 24 часа после сочетанного введения животным бутылкапакса и свинца, носят более выраженный и глубокий характер, нежели в случае сочетания свинца с другим дефолиантом дроппом.

В шестой главе «Взаимодействие пестицидов с мембранными структурами гепатоцитов» приведены данные по взаимодействию

пестицидов с мембранными структурами гепатоцитов. Среди разнообразных подходов, используемых для расшифровки механизма токсического действия пестицидов, важное место занимают физиолого-биохимические исследования, которые могут проводиться на различных уровнях структурной организации: организменном, тканевом, клеточном, субклеточном и молекулярном. Последние 2-3 подхода представляются на сегодняшний день наиболее перспективными, поскольку дают возможность изучить влияние того или иного пестицида, изолированного на конкретном морфо-функциональном уровне или определенных субклеточных структурах. Этот момент особенно важен для выявления первичных стадий взаимодействия чужеродного вещества с компонентами клетки.

Между тем как отмечалось в «Обзоре литературы», влияние пестицидов на структурно-функциональные состояния различных биологических мембран и мембранных образований изучено недостаточно.

Механизм действия различных пестицидов и, следовательно, коррекция вызываемых ими нарушений метаболических процессов, определяется в первую очередь компартиментализацией этих соединений. Данная литература по этому вопросу весьма многочисленна, поскольку значение внутриклеточного распределения пестицидов позволяет не только объяснить, но в известной мере прогнозировать возможные биохимические сдвиги, наступающие в организме при введении пестицидов.

Многочисленными исследованиями установлено, что пестициды проникают внутрь клетки, аккумулируются в ней и оказывают свой эффект путем изменения действия определенных ферментов [2; с.19, 35; с. 48-50].

Инсектициды, фунгициды и гербициды взаимодействуют с биологическими мембранами. При этом происходит адсорбция пестицида на поверхности мембраны. Характер взаимодействия пестицида с липидной частью мембран зависит от размера, формы, дипольного момента и липофильности молекулы токсиканта. Молекулы пестицидов с липофильными свойствами встраиваются в углеводородную часть липидного бислоя.

Таким образом, действие пестицидов может проявляться на различных уровнях организации живого организма, и имея в качестве начального этапа проникновение пестицида в ткани и клетки, взаимодействие с внутриклеточными органеллами может реализоваться в изменении различных сторон метаболизма в клетке, в частности, нарушение структуры внутриклеточных компонентов, регуляции обмена веществ, нарушение проницаемости внутриклеточных мембран. Все это в совокупности приводит к глубоким изменениям клеточного метаболизма в целом.

В случае исследованных нами дефолиантов одним из невыясненных моментов стал вопрос об интенсивности их накопления в различных тканях и субклеточных органеллах, в том числе в одной из основных мишеней - Мх. Для решения этого вопроса нами были проведены эксперименты с использованием меченых пестицидов. Кроме того, в отдельных экспериментах были применены спин-меченые зонды.

Исследования, по изучению проникновения дроппа в ткани и внутриклеточные структуры, проводились на крысах Вистар, которым внутрижелудочно зондом вводили меченый дропп в дозе 1/5 ЛД₅₀ с активностью 100 мкКц/100 грамм массы. Результаты по изучению проникновения меченого дроппа в различные органы показали (рис.6.1.), что через 60-90 мин. после введения радиоактивного пестицида значительная активность его обнаруживается в легких, печени и почках крыс (823, 217 и 688 имп./мин. Мг белка), несколько меньшее накопление ³H-дроппа отмечается в головном мозге крыс (149 имп./мин.мг белка).

Изучение внутриклеточного распределения дроппа выявило, что он может проникать в цитоплазму, в ядро, в Мх и микросом всех исследованных нами тканей. Особенно значительное его количество ассоциировано с ядрами, Мх и цитозолем легких и печени крыс.

В субклеточных фракциях легких значительное количество меченого дроппа ассоциировано с ядрами и цитозолем клеток (425-228 имп./мин.мг белка), несколько меньшее количество пестицида отмечается в Мх легких (118 имп./мин.мг белка).

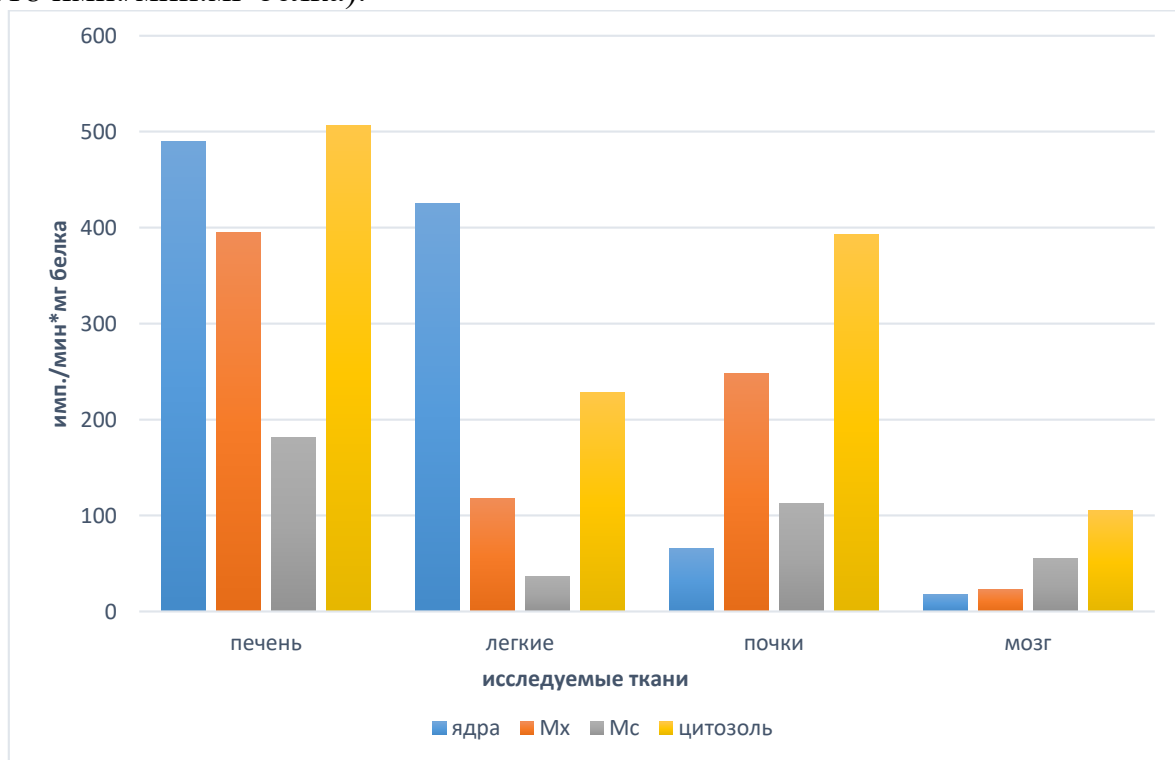


Рисунок 6. Распределение (³h)-дроппа по органам и субклеточным фракциям организма крыс (имп./мин*мг белка)

Аналогичное распределение меченого дроппа отмечается в печени крыс. Значительное количество дроппа отмечается в ядрах, цитозоле и Мх печени (соответственно 490, 506 и 395 имп./мин.мг белка), микросомах печени (181 имп./мин.мг белка).

В почечной ткани значительная активность отмечается в цитоплазматической фракции (393 имп./мин.мг белка) клеток, несколько меньшее количество пестицида ассоциировано с митохондриями и

микросомами клеток почек (248 и 113 имп./мин.мг белка). Значительное количество дроппа отмечается в ядерной фракции почек (66 имп./мин.мг белка). Из данных рис.6 следует, что в головном мозге крыс отмечается лишь незначительное количество этого пестицида.

В следующей серии экспериментов нами было выявлено распределение пестицида бутилкаптакса по органам крыс. Результаты исследований показали, что максимальное количество метки в крови регистрируется через 20 минут после введения меченого пестицида. Как следует из данных, представленных на рис. 5 через 60 мин после введения радиоактивного пестицида значительная активность обнаруживается в печени, легких и почке. Наименьшее накопление наблюдается в головном мозге крыс (рис.7).

Исследование внутриклеточного распределения меченого бутилкаптакса выявило, что пестицид проникает в цитоплазму, в ядро, Мх и микросомальную фракцию клеток различных тканей. Значительное количество меченого пестицида ассоциировано с цитозолем и митохондриями печени, легких и почек. Таким образом, обнаружение радиоактивной метки в разных клеточных фракциях может свидетельствовать о способности этого препарата взаимодействовать с компонентами внутриклеточных структур и нарушать метаболизм в разных компонентах клетки.

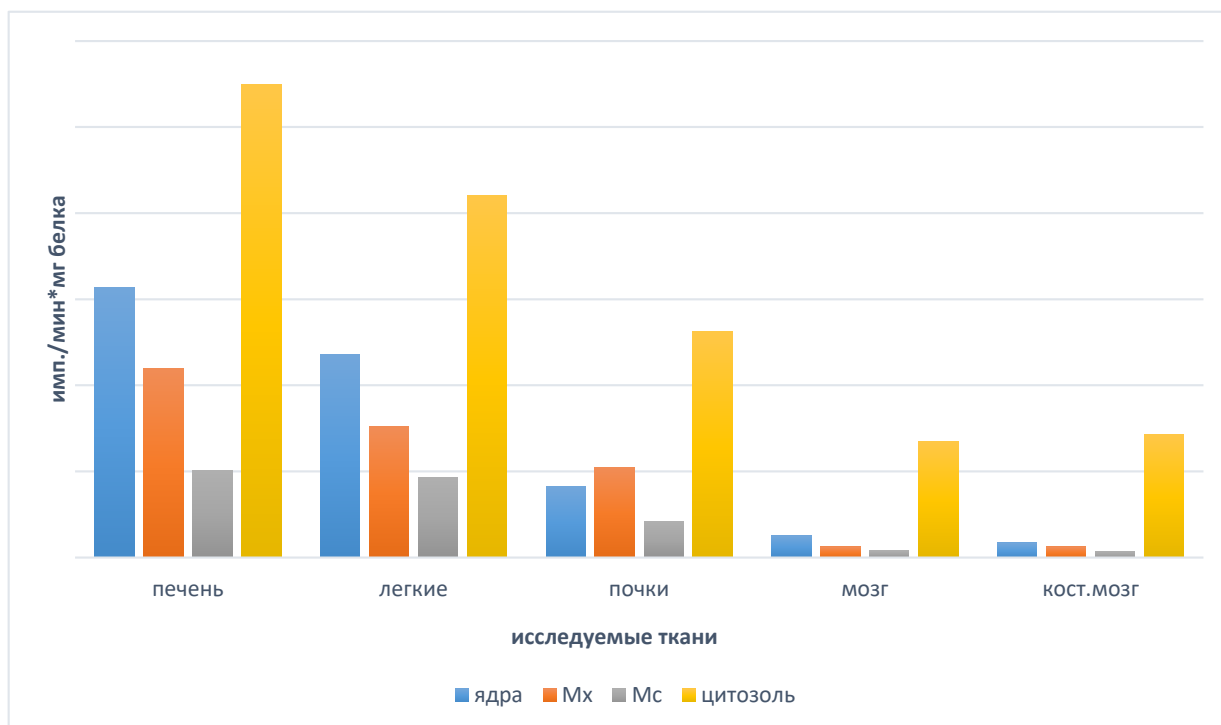


Рисунок 7. Распределение (³H)-бутилкаптакса по органам и субклеточным фракциям(имп/мин·мг белка)

Взаимодействие пестицидов с мембранами митохондрий

Нами были исследованы бутилкаптакс, и дропп, которые представляют собой дефолианты продуцентов масляного альдегида. Согласно мнению Коблова и сотр. масляный альдегид, образующийся в растениях из этих дефолиантов, стимулирует образование отдельного слоя в листьях, обеспечивая дефолирующий эффект. Однако независимо от механизма действия, общей проблемой является наличие у дефолианта побочных и токсических эффектов. Токсическое действие дефолианта на организм теплокровных обусловлено различными эффектами, включая мембраноактивные свойства, при этом Мх рассматриваются как наиболее вероятные внутриклеточные «мишени» (Н.Г.Акиншина, 2001; А.А.Албантова., 2015).

В данном разделе представлены результаты исследования прямого действия дефолиантов бутилкаптакса и дроппа на Мх печени крыс *invitro*, на ряд важнейших функций Мх (дыхание, ОФ, транспорт Ca^{2+} и проницаемость внутренней мембраны для некоторых катионов).

Относительно низкие концентрации бутилкаптакса ингибируют скорость дыхания Мх в состоянии V_3 , не влияя на состояние V_4 . В результате этого уменьшалась величина дыхательного контроля (ДК), но не показатель АДФ/О.

Полярографическое изучение действия бутилкаптакса на транспорт Ca^{2+} тоже подтвердило разобщающее действие высоких концентраций исследуемого препарата на Мх: разобщение бутилкаптаксом Мх теряет способность аккумуляции Ca^{2+} . Однако низкие концентрации бутилкаптакса не влияют на коэффициент Ca^{2+}/O . Добавление бутилкаптакса вызывает выход аккумуляированного Ca^{2+} из Мх и окисление НАД(Ф)Н. Внесение бутилкаптакса в среду до добавления Ca^{2+} приводит к быстрому окислению пиридиннуклеотидов и утрате митохондриями способности аккумуляировать добавленный Ca^{2+} .

Известно, что увеличение проницаемости мембран Мх для различных ионов приводит к снижению электрохимического потенциала H^+ на их внутренней мембране и исключает протекание таких энергозависимых процессов как синтез АТФ, транспорт Ca^{2+} , восстановление НАД сукцинатом и т.д. В связи с этим возникает вопрос, не обусловлены ли описанные выше эффекты бутилкаптакса увеличением проницаемости внутренней мембраны Мх и если - да, то для каких ионов.

Исследование энергозависимого набухания Мх в изоосмотических растворах кальция, калия и аммония показывает, что бутилкаптакс значительно стимулирует проницаемость мембран Мх для всех исследованных катионов (H^+ , K^+ , Ca^{2+}), а также для незаряженных молекул сахарозы. Таким образом, ингибирующее влияние этого пестицида на транспорт Ca^{2+} и на другие энергозависимые процессы в Мх (синтез АТФ, обратный перенос электронов и т.д.) имеет в своей основе, видимо,

неспецифическое увеличение проницаемости внутренней мембраны и снижение вследствие этого мембранного потенциала.

В таблице 1. приведены данные по влиянию бутилкаптакса и дроппа на ОФ, а также на скорость выхода аккумулированного Ca^{2+} из Мх печени крыс.

Таблица № 1.

Влияние различных дефолиантов на функциональные параметры митохондрий печени крыс

Исследуемый дефолиант	Концентрация, мМ	Исследуемый препарат, %			
		V3	ДК	АДФ/О	Скорость выхода Ca^{2+}
Контроль		100	100	100	100
Бутилкаптакс	0,1	48	55,6	99,5-*	1300
	0,3	36	25,8		1500
Дропп	0,1	119	57	85-*	440
	0,3	132	26		1100

Примечание: *ДК=1 и величину АДФ/О в условиях полярографического эксперимента при этом измерить не удастся.

Как было отмечено выше, бутилкаптакс обладает разобщающим действием на ОФ, одновременно следует указать на его ингибирующее действие на дыхание Мх в активном состоянии V_3 и индукцию значительной скорости выхода Ca^{2+} , аккумулированного в Мх .

В отличие от бутилкаптакса, дефолиант дропп проявил заметную разобщающую активность, снижая при концентрации 300 мкМ величину ДК до единицы. Дропп стимулировал на 20-30 % скорость дыхания изолированных Мх в метаболическом состоянии V_3 и более значительно (в 4-5 раз) в состоянии покоя (V_4). Аналогично бутифосу, дропп индуцировал выход Ca^{2+} , ранее аккумулированного в Мх. Так. В присутствии 300 мкМ дроппа скорость выхода Ca^{2+} возрастала в 11 раз.

С целью выявления механизма влияния этого дефолианта на ОФ и транспорт Ca^{2+} мы рассмотрели его эффекты на проницаемость внутренних мембран Мх для некоторых ионов. Как следует из полученных данных, дропп в концентрации 50-100 мкМ наиболее значительно увеличивал протонную проницаемость митохондриальной мембраны и при этом практически не влиял на скорость переноса ионов Ca^{2+} а лишь слегка увеличивал калиевую проницаемость.

Следует отметить, что дропп в отличие от бутилкаптакса не индуцирует значительную неспецифическую проницаемость для многочисленных других исследованных ионов, т.е. действует существенно избирательно, модифицируя только протонную проницаемость митохондриальных мембран. Эффект дроппа на скорость выхода Ca^{2+} из Мх,

вероятнее всего, является следствием снижения DmH^+ за счет протонофорной активности.

Исследование действия бутилкаптакса на ОФ позволило установить относительно высокую разобщающую активность этого дефолианта (таблица 2). Однако снижение величины ДК контроля происходит при этом, не вследствие повышения скорости дыхания в метаболическом состоянии 4, а в результате общего снижения дыхательной активности в метаболических состояниях V_3 и V_4 , при одновременном уменьшении отношения АДФ/О. Так, при концентрации бутилкаптакса 100 мкМ скорость дыхания Мх в состоянии V_3 снижена на 60 %, величина ДК- более чем наполовину, АДФ/О – на 30 %.

В другой серии экспериментов было рассмотрено влияние бутилкаптакса на проницаемость внутренних мембран Мх, исследованное в условиях их энергозависимого набухания.

В отличие от дроппа, который индуцировал в основном протонную проницаемость, бутилкаптакс в концентрации 50-100 мкМ в несколько раз увеличивал проницаемость мембран Мх для ионов K^+ , H^+ и Ca^{2+} , напоминая в этом отношении поведение бутифоса.

Таблица №2.

Действие бутилкаптакса на дыхание и окислительное фосфорилирование митохондрий печени крыс

Концентрация бутилкаптакса, мкМ	Дыхание, нг-атом О/мин.мг белка			
	V_3	V_4	ДК	АДФ/О
0	75	20	3,75	1,85
50	57	19	3.00	1.76
100	32	17	1.82	1.28

Примечание: Среда инкубации: 125 мМ сахарозы, 60 мМ КС1, 5 мМ сукцината, 4 мМ фосфата, 5 мМ трис-КС1, 0,5 мкг/мл ротенона. РН 7,4.

Следовательно, при действии бутилкаптакса на митохондриальные мембраны (и, по-видимому, биологические мембраны вообще) имеет место общее неспецифическое увеличение проницаемости. Дропп проявляет существенно большую избирательность, индуцируя в основном перенос протона.

Как известно, в живых организмах, в известных количествах содержатся практически все элементы таблицы Менделеева. Поэтому для нормальной жизнедеятельности различных организмов необходимо содержание в них определенной концентрации металлов, в том числе и тяжелых. Во многих научных работах подчеркивается роль ионов различных металлов в энергетических процессах, транспорте ионов, значение в каталитической активности металлоферментов. Участие тяжелых металлов в

обменных процессах животных и растений и т.д.. Кроме того, ионы тяжелых металлов выполняют структурную функцию в организме, входят в состав коферментов, нуклеиновых кислот и т.д. Поэтому недостаток так же, как и избыток тяжелых металлов, приводит к всевозможным патологиям, нарушениям функций организма, заболеваниям различных органов и т.д. Известно, что некроз и апоптоз вызывается также ионами тяжелых металлов (Kondoh M., Araragi S., Sato K. et al, 2002; Sasaki M., Miyazaki K., Koga Y., Kimura G. et al. 2002).

Ранее нами было продемонстрировано, что сочетанное воздействие ионов свинца и кадмия оказывает более выраженное действие на ультраструктуру гепатоцитов экспериментальных животных, чем только один из этих металлов. Это наблюдается даже в том случае, если общее количество металлов при совместном действии гораздо меньше, чем количество металла в случае моновоздействия. Иначе говоря, соединения свинца и кадмия потенцируют действие друг-друга.

В настоящем разделе изучалось действие некоторых тяжелых металлов и их смеси на функциональное состояние Мх печени крыс. Это представляло интерес для характеристики влияния ионов тяжелых металлов на состояние тканей и органов, физиологических функций и в особенности, с учетом ранее представленных данных по влиянию на структурный статус клеток,- на энергетический метаболизм клеток и внутриклеточных органелл. В связи с этим предусматривалось изучить влияние тяжелых металлов на дыхание, ОФ, пассивную проницаемость мембраны Мх для ряда катионов, а также ПОЛ биомембран.

Следует отметить, введение кадмия вызывает тяжелую степень интоксикации животных, которая характеризуется следующими признаками: у животных отказали задние конечности, проявлялась агрессивность после введения второй дозы препарата, имело место накопление жидкости в организме, в результате чего наблюдалось общее вздутие. Кроме того, у животных полностью отсутствовал тимус, а выделенные Мх имели очень темный цвет относительно контроля.

Введение $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ крысам в дозе 1,25 мг/100 г массы животных ежедневно, в течении двух дней вызывало ингибирование дыхания изолированных Мх печени крыс в метаболическом состоянии V_3 по Чансу на 34,5 % и V_4 - на 40 % при использовании сукцината в качестве субстрата окисления. В результате этого увеличивалось значение коэффициента дыхательного контроля до 4,5% (процентов 4,0 в контроле), а отношение АДФ/О уменьшалось до 1,41 % (процентов 1,9 в контроле). На основании этих данных можно заключить, что Cd^{2+} *in vivo* индуцирует ингибирование электрон-транспортной функции дыхательной цепи Мх печени крыс.

Введение животным $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COOH})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ в дозе 4 мг/100 г массы ежедневно, в течение двух дней вызывает стимуляцию дыхания Мх печени крыс во всех метаболических состояниях: V_3 - на 14 %, V_4 - на 27 %, в

результате чего уменьшаются величины коэффициентов ДК и АДФ/О (таблица №3).

Введение животным смеси солей кадмия и свинца (доза 0,6 мг смеси/100 г массы ежедневно, в течение двух дней) привело к незначительному ингибированию окисления сукцината в состоянии V_3 , стимуляцию дыхания на 15 % в состоянии V_4 и вызвало снижение величины ДК до 3,4 (против 4,6 в контроле), а АДФ/О-до 1,0 (против 1,9 в контроле). В этой серии экспериментов, по-видимому, в основном проявилось влияние ионов свинца, которые при отдельном введении вызывали разобщение ОФ.

При исследовании влияния цинка *in vivo* (доза 3 мг/100 г массы, ежедневно в течение двух дней) на функциональное состояние Мх печени крыс было обнаружено, что этот препарат вызывает ингибирование скорости окисления сукцината во всех метаболических состояниях таким образом, что величина ДК уменьшалась до 3,5, а отношение АДФ/О снижалось до 1,3 (таблица 3).

Таблица 3.

Влияние тяжелых металлов на окислительное фосфорилирование митохондрий печени крыс в опытах *in vivo*

Группа животных	Скорость потребления кислорода, нг-атом О/мин. мг белка.				
	V_3	V_4	ДК	АДФ/О	$V_{днф}$
Контроль	74,0	18,5	4,0	1,9	73,9
Соли кадмия	48,5	11,1	4,4	1,4	58,1
Соли свинца	84,4	23,5	3,6	1,0	93,3
Смесь солей кадмия и свинца	72,1	21,3	3,4	1,1	79,7

Примечание: Среда инкубации: 100 мМ КС1, 5 мМ трис-буфер, 0,8 мМ фосфата калия, 5 мМ сукцинат, рН – 7,1. Добавки: 250 мкМ АДФ, 200 мкМ ДНФ.

Таким образом, введение крысам тяжелых металлов вызывает изменение в функциональном состоянии Мх печени крыс такой направленности, что наиболее существенно нарушается эффективность фосфорилирования. При сочетанном введении в течение 2 суток препаратов кадмия и свинца, механизм ОФ в изолированных Мх имеет ряд признаков, свойственных «свинцовому» отравлению, однако вместе с тем активность дыхательной цепи, оцениваемая по параметру $V_{днф}$, занимает промежуточное значение между вариантами с кадмием и свинцом.

Результаты этих экспериментов согласуются с представленными выше данными по влиянию ионов кадмия и свинца при отдельном и сочетанном введении на ультраструктуру гепатоцитов. Отмечалось в частности, что совместное применение солей свинца и кадмия в условиях, когда их

суммарная доза не превышала индивидуальную для соли каждого металла, приводила к усугублению поражений структурного статуса ткани печени, с более широким вовлечением в патологический процесс различных органелл. Наряду с признаками, которые наблюдались в гепатоцитах при отдельном применении токсических агентов, появился и ряд новых, что может наводить на мысль о взаимном потенцировании эффектов препаратов кадмия и свинца.

В другой серии экспериментов (таблица 4) было исследование влияния тяжелых металлов на ОФ Мх печени крыс *in vitro*.

Таблица 4.

Влияние тяжелых металлов на окислительное фосфорилирование митохондрий печени крыс в опытах *in vitro*

Препараты	Концентрация (М)	Скорость потребления кислорода, нг-атом О/мин·мг белка.				
		V ₃	V ₄	ДК	АДФ/О	V _{днф}
Контроль		65,0	7,0	3,8	2,0	78,0
Соли кадмия	10 ⁻⁵	78,0	20,5	3,8	1,9	77,0
	2×10 ⁻⁵	19,5	16,5	1,2	1,4	25,0
	10 ⁻⁴	15,0	15,0	1,0	-	15,0
Соли свинца	4×10 ⁻⁵	51,5	14,0	3,6	1,8	61,0
	10 ⁻⁴	37,0	19,0	1,9	1,2	28,0
Смесь солей Cd+Pb	10 ⁻⁶	62,0	26,5	2,3	1,9	84,0
	2×10 ⁻⁶	32,0	21,0	2,9	1,6	44,0
	10 ⁻⁵	19,0	19,0	1,0	-	19,0

Примечание. Среда инкубации: 100 мМ КС1, 5 мМ трис-буфер, 0,8 мМ фосфата калия, 5 мМ сукцинат, рН – 7,1. Добавки : 250 мкМ АДФ, 200 мкМ ДНФ.

Добавление к суспензии Мх печени крыс ионов кадмия до конечной концентрации 10⁻⁵М вызывало одновременную стимуляцию дыхания в состояниях V₃ и V₄ таким образом, что величина ДК оставалась на уровне контроля, с незначительным уменьшением коэффициента АДФ/О. С увеличением концентрации кадмия до 2·10⁻⁵М дыхания Мх в состоянии V₃ угнеталось на 70 %, вследствие чего уменьшалась величина коэффициента ДК до 1,2 и АДФ/О – до 1,4 (таб. 4). При концентрации кадмия 10⁻⁴М величина ДК уменьшалась до 1, т.е. приходило разобщение со снятием механизма дыхательного контроля. Эти результаты не противоречили данным, полученным в эксперименте *in vivo*, поскольку и в том, и в другом случае кадмий угнетал электрон-переносящую функцию дыхательных цепочек Мх печени крыс.

Препарат свинца, начиная с концентрации 4·10⁻⁵М, ингибировал дыхание Мх и этот эффект усиливался с увеличением концентрации до 10⁻⁴М, при этом V₃ тормозилась на 43%, величина коэффициента АДФ/О

снижалась до 1,2, а ДК - до 1,9. Присутствие 2,4-ДНФ не вызывало максимальную стимуляцию скорости потребления кислорода, что свидетельствует об эффектах на уровне дыхательной цепи Мх.

Следует отметить, что результаты по влиянию препарата свинца *in vitro* не совпадают с данными в эксперименте *in vivo*. Если *in vivo* свинец вызывает стимуляцию дыхания во всех метаболических состояниях ОФ, то в *in vitro* происходило явное ингибирование скорости потребления кислорода. Неспособность 2,4-ДНФ снимать это ингибирование однозначно свидетельствует о торможении электрон – транспортной цепочки мембраны Мх. По-видимому, в эксперименте *in vivo* в использованных нами условиях и сроках имело место не прямое действия препарата свинца на мембрану Мх, а скорее всего – опосредованное, через обширное угнетение активности ферментов и метаболизм в целом, перестройку структуры клеточных органелл, что в итоге могло вызывать разобщение ОФ.

Непосредственный контакт мембраны Мх со свинцом в условиях *in vitro* индуцировало ингибирование дыхания Мх. Смесь кадмия и свинца в низких концентрациях (10^{-6} М) вызывала разобщение ОФ в основном за счет стимуляции V_4 на 36 % при использовании сукцината в качестве субстрата окисления, при этом величина ДК уменьшалась до 2,3 (против 3,8 в контроле). С увеличением концентрации смеси свинца и кадмия до 10^{-5} М наблюдалось дальнейшее усиление ингибирующего эффекта в отношении скорости потребления кислорода в третьем метаболическом состоянии по Чансу и полное разобщение ОФ, которое происходило на фоне дыхания, заингибированного на 71 %.

ВЫВОДЫ

1. Массовый коэффициент печени при отдельном введении химических веществ увеличивается в следующем порядке: соли кадмия > соли свинца > дефолиант бутилкаптокс > дефолиант дропп. Сочетанное применение соли кадмия и соли свинца отражает картину свинцового отравления. А сочетанное введение соли свинца с дроппом или бутилкаптоксом приводит к увеличению этого коэффициента. Это свидетельствует о более выраженной гепатотоксичности при сочетанном введении дефолиантов с солями тяжелых металлов, чем при введении в отдельности, каждого из этих химических веществ.

2. При отравлении солями тяжёлых металлов, реакция гепатоцитов и внутрипечёночных сосудов более выражена в ранние сроки после отравления (через 3 часа), а при отравлении дефолиантами в поздние сроки (через 24 часа).

3. При однократном введении животным соли препаратов свинца и кадмия в дозе 6 мг/100 г массы животного, в гепатоцитах поражаются структуры ответственные за гетеросинтез. В ядрах гепатоцитов отмечается умеренное уменьшение количества конденсированного хроматина, часть ядер не содержит ядрышек, некоторые ядра неправильной формы,

количество митохондрий уменьшено. Сочетанное введение препаратов свинца и кадмия приводит к патологическим нарушениям в ультраструктуре гепатоцитов, которые ответственны за осуществление биоэнергетических и биосинтетических функций. При этом отмечается выраженное снижение электронной плотности хроматина ядер, с уменьшением его конденсированного компонента, отсутствием в цитоплазме зерна гликогена.

4. Однократное внутрибрюшное введение животным соли свинца (в дозе 6 мг/100 г массы тела) и кадмия, приводит к патологическим изменениям в митохондриях печени - увеличению размеров, снижению количества, фрагментации или исчезновению кристов, изменению формы. Характерным является увеличение электронной плотности матрикса митохондрий, умеренная гиперплазия крист, фрагментация и вакуолизация профилей гранулярной и гладкой эндоплазматической сети. При их сочетанном воздействии отмечается увеличение митохондрий, просветление их матрикса, возрастание количество крист, сокращение протяженности профилей гладкой и гранулярной эндоплазматических сетей.

5. Интоксикация животных дефолиантом дроппа приводит через сутки к обширным изменениям в структуре гепатоцитов. Дропп проникает в цитоплазму, в ядро, в значительных количествах обнаруживается в митохондриях и микросомах практически всех исследованных нами тканей. Особенно значительное его количество ассоциировано с ядрами, митохондриями, цитозолем легких и печени крыс. Совместное введение солей свинца и дроппа в организм животных приводит к их взаимно потенцирующему эффекту в отношении поражения структурных компонентов печени, резкому уменьшению зерен гликогена, вплоть до его полного исчезновения в цитоплазме гепатоцитов.

6. В опытах *in vivo* бутилкаптакс поражает структурные компоненты печени. Сочетанное введение бутилкаптакса и свинца приводит к патологическим изменениям структурного статуса гепатоцитов, чем их раздельное введение. Наблюдающиеся изменения ультраструктуры гепатоцитов, через 24 часа после сочетанного введения животным бутилкаптакса и свинца, носят более выраженный и глубокий характер, нежели в случае сочетания свинца с другим дефолиантом, дроппом.

7. Показано, что меченные пестициды (дропп и бутилкаптакс) через 60-90 минут после введения накапливаются в легких, печени, почках, в головном мозге крыс. Обнаружено, что исследуемые пестициды проникают в цитоплазму, ядро, митохондрий и микросомальную фракцию клеток различных тканей. Значительное количество меченных пестицидов ассоциировано с цитозолем и митохондриями печени, легких и почек.

8. Обнаружено, что дефолианты бутилкаптакс и дропп в концентрациях 10-50 мкМ эффективно действуют на дыхание митохондрий в состоянии V_3 и разобщают ОФ, индуцируют скорость выхода Ca^{2+} из митохондрий. Бутилкаптакс увеличивает пассивную проницаемость мембран митохондрий

для ионов H^+ , K^+ , Ca^{2+} и незаряженных молекул сахарозы, а дробь для ионов H^+ и незначительно для K^+ .

9. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* показано, что соли тяжелых металлов (кадмий, свинец) вызывают разобщение ОФ со снятием механизма дыхательного контроля, увеличивают пассивную проницаемость внутренних мембран митохондрий. Сочетанное введение животным смеси солей кадмия и свинца (доза 0,6 мг смеси/100 г массы ежедневно) через двое суток приводит к уменьшению синтеза АТФ, в результате ингибирования электрон-транспортной функции дыхательной цепи митохондрий печени крыс.

**SCIENTIFIC COUNCIL DSc/PhD.04/30.12.2019.Tib.93.01
ON AWARDING OF SCIENTIFIC DEGREES
AT BUKHARA STATE MEDICAL INSTITUTE**

BUKHARA STATE MEDICAL INSTITUTE

OCHILOV KOMIL RAKHIMOVICH

**Comparative characteristics of morphometric and ultrastructural structure of
liver hepatocytes in normal and under the influence of various
chemical factors**

14.00.02 –Morphology

**ABSTRACT OF DOCTORAL DISSERTATION (DSC)
ON MEDICAL SCIENCES**

Bukhara – 2020

The topic of the doctoral dissertation (DSc) is registered in the Higher Attestation Commission under the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan under the number B2020.2.DSc/Tib405

The doctoral dissertation is carried out in the Bukhara State Medical Institute.

The abstract of the dissertation in three languages (Uzbek, Russian, English (resume)) is available on the web page of the Scientific Council (www.bsmi.uz) and the information and educational portal "ZiyoNet" (www.ziynet.uz).

Scientific consultant: **Teshaev Shuhrat Jumaevich**
Doctor of medical sciences, professor

Official opponents: **Naumova Lubov Ivanovna**
Doctor of medical sciences

Rasulov Xamidulla Abdullaevich
Doctor of medical sciences

Raxmatova Muqaddas Xoltaevna
Doctor of medical sciences

Leading organization: **Pavel Josef Shafarik University (Slovakia)**

Defense will take place on « ____ » _____ 2020 at _____ at the meeting of Scientific Council DSC/PhD.04/30.12.2019.Tib.93.01 at the Bukhara State medical institute (address: 200118, Uzbekistan, Bukhara, Navoiy str.1. Phone/fax: (+99865) 223-00-50; Phone: (+99865) 223-17-53, e-mail: buhmi@mail.ru)

The dissertation can be reviewed at the Information Resource Center of the Bukhara State medical institute (registered number № ____). (Address: 200118, Uzbekistan, Bukhara, Navoiy str.1. Phone: (+99865) 223-00-50)

Abstract of dissertation sent out on « ____ » _____ 2020 year
(mailing report № ____ on « ____ » _____ 2020 year)

A.Sh. Inoyatov
Chairman of the Scientific Council on Award
of Scientific Degrees, Doctor of Medicine

N.U. Narzullaev
Scientific Secretary of the Scientific Council on Award
of Scientific Degrees, Doctor of Medicine

N.A. Nuralliev
Chairman of the Scientific Seminar of the Scientific
Council on Award of Scientific Degrees,
Doctor of Medicine, Professor

RESUME OF THE DOCTOR OF SCIENCES (Dsc) DISSERTATION

Relevance and relevance of the dissertation topic. In the world, public health is an urgent problem on a global scale. The majority of environmental pollutants are pesticides, without the use of which it is impossible to develop agriculture in the future. "According to the world Health Organization, between 500,000 and 2 million people are exposed to pesticide poisoning every year, with 40,000 cases resulting in death."

The object of research is: rat liver, hepatocytes and membrane structures (mitochondria).

Scientific novelty of the research be this: for the first time, the mass coefficient of the rat liver was studied under the action of cadmium and lead salts, as well as under the action of defoliant butylcaptop and dropa when used separately and together;

for the first time ultrastructural changes in liver tissue and functional state of mitochondria during intoxication of animals with salts of heavy metals and pesticides with their separate and combined administration were studied; it is shown that the most vulnerable liver ultrastructure under the action of toxicants are the mitochondria and endoplasmic reticulum. With the use of labeled defoliant (dropper, butylcatechol) found the greatest accumulation of label in these ultrastructure;

it is established that in the case of combined administration of lead and cadmium preparations to animals, mutual synergy of these toxicants is realized at the level of ultrastructural changes in hepatocytes and shifts in the functional state of mitochondria, with the predominance of signs inherent in the action of lead salts;

the specificity of changes in the ultrastructure of hepatocytes with the combined administration of defoliant and lead salt was found, which, as a rule, does not repeat the restructuring of the structure that is induced by separate administration of toxicants;

the correlation of Toxicological characteristics of defoliant with their modifying effect in vitro on the permeability of rat liver mitochondria membranes was revealed.

Implementation of research results. Based on the results obtained, the study of morphometric and ultrastructural parameters of the liver and hepatocytes under the action of heavy metal salts and some defoliant in separate and joint use:

approved guidelines on the topic: "Methods for studying the ultrastructural structure of liver cells when introducing heavy metal salts into the body" (reference of the Ministry of health No. 8N-R / 139 dated June 09, 2020). This methodological recommendation made it possible to study the ultrastructural structure of liver cells when introducing heavy metal salts into the body;

approved guidelines on the topic: "Methods for studying the structural status of hepatocytes when administered together with lead and dropa to animals" (reference of the Ministry of health No. 8N-R / 140 dated June 09, 2020). This

methodological recommendation made it possible to study the structural status of hepatocytes when dropa and lead were administered to animals together;

approved guidelines on the topic: "Methods for studying the morphofunctional state of cell structures under the action of pesticides" (reference of the Ministry of health No. 8N-R / 141 dated June 09, 2020). This methodological recommendation made it possible to study the morphofunctional state of cell structures under the action of pesticides;

The results of the dissertation were implemented in the forensic chemistry laboratory of the Bukhara regional Bureau of Forensic medical examination, the Bukhara regional Bureau of pathological anatomy (Conclusion of the Ministry of health of the Republic of Uzbekistan No. 8 n-d/62 dated 9.06.2020). The results of the development, by establishing the presence of low doses of pesticides and salts of heavy metals in biological objects using thin-layer gas-liquid chromatography in the process of conducting a forensic medical examination, help to establish the possible cause of pathological changes in the organism studied, giving the opportunity to improve the efficiency of diagnosis of poisoning with timely assistance and treatment of the victim, or to establish the cause of death.

Structure and scope of the dissertation The dissertation consists of an introduction, five chapters, conclusion, conclusions, practical recommendations, and a list of references. The volume of the dissertation is 185 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Очилов К.Р. Воздействие различных дефолиантов на энергетические процессы митохондрий печени крыс *in vitro*. // Биология ва тиббиёт муаммолари. - Самарқанд, 2017. - №2 (94) С.175-177.(14.00.00.№19).

2. Очилов К.Р., Илёсов А.С. Влияние ионов солей тяжёлых металлов на дыхание и окислительное фосфолирование митохондрий печени крыс // Биология ва тиббиёт муаммолари. - Самарқанд, - №2. (100) 2018. -Б.155-159. (14.00.00.№19).

3. Очилов К.Р., Илёсов А.С. Ультраструктурные изменение печени крыс при сочетанном введении солей тяжёлых металлов // Биология ва тиббиёт муаммолари. Самарқанд, - №2. (100) 2018. - Б.159-162. (14.00.00.№19).

4. Ochilov K.R., Influence of ions of heavy metal salt on breathing and oxidative phosphorylation of mitochondria of rat liver // European Science Review. - Austria, Vienna,2018, -№3-4.-pp.186-189. (14.00.00.No.19).

5.Очилов К.Р,Тешаев Ш.Ж, Уктамова Р.У. Морфометрические параметры структурных элементов печени при воздействии соли кадмия // Новый день в медицине. Бухара.2020 №2.1(30/1). С.221-224. (14.00.00№22).

6.Очилов К.Р. Влияние ионов кадмия и кобальта на дыхание митохондрий печени крыс.// Новый день в медицине. Бухара.2020 №2.-С.14-17. (14.00.00№22).

7.Очилов К.Р. Проницаемость митохондриальных мембран при воздействия кобальта. // “Морфология” - Санкт-Петербург. 2008 г, - №2. –С.101-103. (14.00.00№2)

8.Очилов К.Р., Тешаев Ш.Ж. Морфофункциональные особенности митохондрий печени крыс при отравлении бутилкаптаксом.// Новый день в медицине. Бухара.2020 №2.-С.17-21. (14.00.00№22).

9. Хидоятлов Б.А., Тен С.А., Очилов К.Р., Раджабов А.Б., Тешаев Ш.Ж., Бобомуродов Н.Л. Ингичка ва чамбар ичак лимфоид тузилмаларининг илк постнатал даврдаги ривожланиши ва уларнинг цимбуш таъсиридаги реактив ўзгаришлари. // Проблемы биологии и медицины. - Самарқанд, 2001. - № 4,1. (22) - С. 41-44. (14.00.00.№19).

10.Очилов К.Р. Ультраструктурные изменения печени крыс при пероральном введении солей тяжелых металлов. // Проблемы биологии и медицины.-Самарқанд, 2001. - №2. (19) - С. 48-50. (14.00.00.№19).

11. Очилов К.Р. Действие солей тяжелых металлов на функциональное состояние клеточных структур. // Проблемы биологии и медицины.- Самарқанд, 2004. - №2. (19) - С. 21-24.(14.00.00.№19).

II бўлим (II часть; II part)

12. Очилов К.Р. Морфофункциональное состояние клеточных структур при действии пестицидов и солей тяжелых металлов // Монография. Ўзбекистон миллий энциклопедияси. – Ташкент, 2009. 130 с.

13. Гизатуллина З.З., Орынбаева З.С., Очилов К.Р., Галустьян Г.Г., Гагельганс А.И., Журбенко И.М. Действие дефолиантов на энергетику митохондрий печени крыс *in vitro* // Биологические науки. – Москва, 1992. - № 10. - С. 81-87.

14. Гизатуллина З.З., Гагельганс А.И., Орынбаева З.С., Степаниченко Н.Н, Очилов К.Р, Тыщенко А.А, Карцев В.Г. Действие природных фунгицидов - производных нафтохинона на энергетический метаболизм митохондрий печени и тимоцитов крыс. // Ж. Биологические науки. – Москва, 1993. - № 4. - Б. 95-103.

15. Тен С.А., Бобомуродов Н.Л. Очилов К.Р. Структурные изменения желез пилорического отдела желудка крысы при действии пестицидов // Морфологические ведомости- Москва - Минск, 2002. .-№ 3-4, - С. 55-56.

16. Очилов К.Р. Ультраструктурные изменения печени крыс при пероральном введении солей тяжелых металлов. // Вестник Тинбо. - Ташкент, 2010. -№1. - С. 54-57.

17. Очилов К.Р. Функциональные изменения митохондрий печени крыс при отравлении организма бутилкаптаксом. // Вестник Тинбо. - Ташкент, 2010. - №2. - С. 84-86.

18. Очилов К.Р. Влияние ионов кобальта и кадмия на дыхание и окислительное фосфорилирование (ОФ) митохондрий печени. // Вестник Тинбо. - Ташкент, 2010. - №2. - С.103-107.

19. Очилов К.Р., Урманова Г.У, Асраров М.И. Изучение пассивной проницаемости митохондриальных мембран при воздействии хлорида кобальта в опытах *in vivo*. // Доклады АН.Узбекистана. -Ташкент, 2008. -№5. – С. 37-39.

20. Mirakhmedov A.K., Ochilov K.R., Batyrov B.M., Khamidov D.Kh. Effect of pesticides on morpho-functional properties and enzyme systems of cell membranes. // In 5-th Internat. Congress of Cell Biol. Madrid (Spain), 1992, P. 1

21. Mirakhmedov A.K., Achilov G.B., Ochilov K.R. Effect of pesticides on Cell metabolism. //In: Congress of Management Systems. Helsinki (Finland), March 1, 1994, p.

22. Тухтаев К.Р., Маматназарова М.Ф, Очилов К.Р. Морфологические морфометрические особенности селезенки при интоксикации пестицидами и некоторые пути их коррекции. // Сборник научных трудов «Функциональная морфология внутренних органов, тканей и клеток в клинике и эксперименте». Ташкент, 1995.-С.169-172.

23. Очилов К.Р. Қўрғошин билан захарланишда айрим гепатоцитлар тузилмаси. // Илмий – амалий конференция материаллари тўплами. Тошкент, 2006. – Б.8-9.

24. Очилов К.Р. Ҳайвонлар организмига дропп дефолианти тақсимланишини ўрганиш // Биология ва эндокриниологиянинг замонавий

муаммолари илмий амалий конференция матнлари тўплами. - Тошкент, 2006. - Б.7-8.

25. Очилов К.Р. Қўрғошин билан заҳарланшда гепатоцитларнинг таркиби ўзгариши. // Илмий – амалий конференция материаллари тўплами. - Тошкент, 2006 – Б.151-154.

26. Очилов К.Р. Нерв мушак синапсига фосфорорганик бирикмалар таъсири // Илмий – амалий конференция материаллари тўплами. - Тошкент, 2006. – Б.154-156.

27. Очилов К.Р, Тешаев Ш.Ж, Хидоятлов Б.А. Каламушлар заҳарланишида физик ривожланишни ўрганиш // Экстренетал касалликларнинг долзарб муаммолари. Республика илмий-амалий анжумани материаллари тўплами. - Бухоро, 1999. – Б.166-168.

28. Очилов К.Р. Ж.Т.Каюмов. Ультраструктурные изменения печени крыс при пероральном введении солей тяжёлых металлов. “Пути совершенствования судебной экспертизы. Зарубежный опыт” Материалы научно-практической конференции 15-16 ноября 2017 г. - Ташкент, 175. С.

29. K. R. Ochilov Morphometric parameters of the structural elements of the liver when exposed to dropp defoliant. International Scientific Conference on challenging problems of children's dental. - India, 2020. – P. 10.

30. Очилов К.Р. Методика изучения ультраструктурного строения клеток печени при введении в организм солей тяжелых металлов. Методические рекомендации, Ташкент, 2020.-26с.

31. Очилов К.Р. Методика изучения структурного статуса гепатоцитов при совместном введении животным дроппа и свинца. Методические рекомендации, Ташкент, 2020.-25с.

32. Очилов К.Р. Методика изучения морфофункционального состояния клеточных структур при действии пестицидов. Методические рекомендации, Ташкент, 2020.-27с.

Автореферат “Дурдона” нашриётида тахрирдан ўтказилди ва ўзбек, рус ва инглиз тилларидаги матнларнинг мослиги текширилди.

Бичими 60x84 1/16. Рақамли босма усулида босилди. Times New Roman гарнитураси. Шартли босма тобоғи: 4.5. Адади 100 нусха. Буюртма №80
Гувоҳнома АИ № 178. 08.12.2010.

“Sadriddin Salim Vuxoriy” МЧЖ босмахонасида чоп этилди.
Бухоро шаҳри М.Иқбол кўчаси 11-уй. Тел.: 0(365) 221-26-45

Выражаю искреннюю благодарность своему научному консультанту д.б.н. А.С.Илясову за консультативную и практическую помощь при выполнении данной работы.

