

2. Волошин Н. А. Внутритрубная антигенная стимуляция как модель для изучения морфогенеза органов / Н. А. Волошин, Е. А. Григорьева, О. Г. Куш [и др.] // Морфологические ведомости. – 2006. – № 1 – 2. – С. 57 – 59.
3. Куш О. Г. Особливості будови шкіри і асоційованої з нею лімфоїдної тканини щурів в ранньому постнатальному періоді в нормі та після внутрішньооплідного уведення антигенів (анатомо-експериментальне дослідження): автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 14.03.01 “Нормальна анатомія” / О. Г. Куш // – Тернопіль, - 2001. – 19 с.
4. Лазарик А. Л. Динамика клеточного состава двенадцатиперстной кишки новорожденных крыс в раннем постнатальном онтогенезе в норме и после внутритрубного введения антигена / А. Л. Лазарик // Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. – 2011. – Вип. XXIV, № 1. – С. 58–61.
5. Мельник Н. О. Реактивні зміни органів імунної системи під впливом патологічних факторів / Н. О. Мельник, І. В. Чекмарьова, Ю. Б. Чайковський // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2004. – Т. 3, №3. – С. 5–7.
6. Матвейшина Т. М. Мікроскопічна будова глотки щурів в постнатальному періоді / Т. М. Матвейшина // Актуальні питання медицини і фармації : тези доп. всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених, 29 вер. 2011 р. – Запоріжжя, - 2011. – С. 31–32.
7. Сырцов В. К. Периферические органы иммунной системы / В. К. Сырцов, Н. А. Волошин, Е. Г. Алиева // Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики. – 2011. – Вип. XXIV, № 1. – С. 8–11.
8. Sansonetti P. J. (2011) Antigen-specific CD8(+) T cells fail to respond to *Shigella flexneri* / P. J. Sansonetti [et al.] // Infect Immun. - 2011, Vol.79(5), P. 2021-2030.

Реферати

СОСТОЯНИЕ И РЕАКТИВНОСТЬ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ СЛИЗИСТОЙ ДЕСНЫ НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС ПОСЛЕ ВНУТРИТРУБНОГО ДЕЙСТВИЯ АНТИГЕНА

Волошин Н. А., Бурега Ю. А., Куш О. Г., Швец В. М.

Десневой эпителий в норме обеспечивает высокую механическую и иммунную защиту пародонта. Антигенная нагрузка в антенатальном периоде приводит к увеличению количества лимфоцитов, а среди них PNA+ лимфоцитов эпителия десен. У антигенпремированных, в плодном периоде, крыс после рождения, на фоне увеличенного количества лимфоцитов, наблюдается дисбаланс становления слоев эпителия, что обусловлено нарушениями механизмов пролиферации, стратификации и десквамации эпителия, которое, в свою очередь, приводит к снижению сопротивления механическому и антигенному влияниям. В основе этих изменений лежит повышение пролиферативной активности базального слоя эпителия и уменьшения темпов его стратификации. Толщина слизистой десен становится меньшей что, в дальнейшем, может быть почвой для возникновения воспалительных и неопластических процессов при действии даже непатогенных факторов.

Ключевые слова: десна, эпителиоцит, лимфоцит, крысы, антиген.

Стаття надійшла 1.02.2015 р.

CONDITION AND REACTIVITY OF RATS' MUCOUS GUM IN EARLY POSTNATAL PERIOD IN NORMAL AND AFTER INTRAUTERINE ANTIGENIC ACTION

Voloshyn N., Burega Yu., Kusch O., Shvetz V.

Gingival epithelium in a norm provides the high mechanical and immunological periodontal protection. Antigenic antenatal influence leads to the lymphocytes increase content and among its PNA+ lymphocytes of gums epithelium. In antigenpremium in antenatal period rats, afterbirth, at the background of lymphocytes quantity increase, observed an imbalance in the epithelium layers formation, conditioned the violation mechanisms proliferation, stratification and desquamation of epithelium. These processes lead to reduce the resistance to mechanical and antigenic influences. Underlying these changes is epithelium basal layer proliferative activity increase and reduction the pace of its stratification. The thickness of the gums mucosa becomes smaller, that hereinafter can be a basis of emergence inflammatory and neoplastic processes when exposed to even non-pathogenic factors.

Key words: epithelial cells, lymphocytes, gums, rat, antigens.

Рецензент Єрошенко Г.А.

УДК 616.833.58+615.28+616-091.8

С. Б. Герашенко, О. І. Дельцова, О. І. Гевка, В. М. Чернович, О. Д. Марчук
ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет”,
м. Івано-Франківськ

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ПАКЛІТАКСЕЛ-ІНДУКОВАНА ПЕРИФЕРІЙНА НЕЙРОПАТІЯ: УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ НЕРВОВИХ ВОЛОКОН

Експериментальне дослідження присвячене електронномікроскопічному вивченню патоморфологічних змін нервових волокон під впливом Паклітакселу. Препарат вводили внутрішньоочеревинно білим щурам у дозі 2 мг/кг через день 4 рази. Забір сідничних нервів проводили на 1-у, 7-у, 15-у, 27-у, 60-у, 90-у, 120-у доби після останнього введення. Виявлені такі зміни ультраструктури мієлінових нервових волокон, як гіпертрофія та розволокнення мієлінової оболонки з утворенням міжламелярних вакуоль, набряк та атрофія осьових циліндрів із порушенням упорядкованого розміщення нейротубул та нейрофіламентів, пошкодження мітохондрій осьових циліндрів та нейролемоцитів, дегенерація нервових провідників та явища часткової ремієлінізації.

Ключові слова: паклітаксел, електронна мікроскопія, нервові волокна, периферійна нейропатія.

Нейротоксичність є доволі поширеним побічним ефектом хіміотерапії хворих на злоякісні пухлини [14]. Антибластомний препарат групи таксанів – Паклітаксел (П) широко застосовують у сучасній терапії онкологічних захворювань, проте його небажані впливи на нервову систему обмежують необхідне дозування середника та відповідно визначають подальший перебіг

захворювання [6, 8]. Із цього приводу з'являється дедалі більше досліджень, спрямованих на оптимізацію схем лікування та вивчення генезу неврологічних порушень, зумовлених дією на організм П [1, 4, 10]. Дослідники описують морфологічні відхилення на різних рівнях нервової системи, а також їхні фізіологічні прояви. [11, 12], однак механізми виникнення та особливості розвитку патоморфологічних змін периферійної нервової системи не є ще до кінця з'ясованими.

Метою даного дослідження стало вивчення змін структури нервових провідників сідничних нервів у процесі розвитку П-індукованої нейропатії на електронномікроскопічному рівні.

Матеріал та методи дослідження. Об'єктом дослідження були сідничі нерви (СН) 35 білих рандомбредних щурів масою 150-200 г, яким вводили внутрішньоочеревино П (Actavis, Румунія) у дозі 2 мг/кг маси тіла, через одну добу 4 рази (сумарна доза 8 мг/кг) [3]. 15 тварин, яким вводили внутрішньоочеревино ізотонічний розчин NaCl еквівалентного об'єму, служили в якості контролю. Забір матеріалу дослідних та контрольних тварин проводили на 1-у, 7-у, 15-у, 27-у, 60-у, 90-у, 120-у доби після останнього введення препарату. Сегменти СН фіксували в 1,0% розчині чотирьохокису осмію на фосфатному буфері протягом 2 годин. Після відмивання матеріалу в 0,1 М фосфатному буфері, дегідратації в розчинах спирту зростаючої концентрації, контрастування в розчині ураніл-ацетату шматочки поміщали в суміш епоксидних смол Epon і Araldit M. "Напівтонкі" та ультратонкі зрізи виготовляли на ультрамікротомі УМТП-2М. Попередньо контрастовані ураніл-ацетатом та цитратом свинцю ультратонкі зрізи вивчали за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К.

Результати дослідження та їх обговорення. При світлооптичному та електронномікроскопічному дослідженні зрізів СН тварин контрольної групи, забарвлених толуїдиновим синім, на всіх етапах експерименту спостерігалось компактне розміщення мієлінових нервових волокон (МНВ), які були розділені тонкими прошарками ендоневрію. Переважали МНВ малого та середнього калібру неправильної округлої форми з чіткими контурами. Мієлінова оболонка рівномірної товщини, однорідна. На 1-у добу після останнього введення П визначався помірно виражений набряк ендоневральної сполучної тканини. Домінували МНВ середнього діаметра округлої форми, з'являлися численні волокна великого діаметра, зосереджені, в основному, на периферії пучків СН. Внутрішні та зовнішні контури їхньої мієлінової оболонки втрачали конгруентність, формуючи випинання. Порушувалася тонка організація ламелярної будови з утворенням численних вакуоль невеликих розмірів, що розшаровували пластинки мієліну. У цитоплазмі окремих осьових циліндрів підвищувалася електронна щільність гіалоплазми та зростала кількість мікротрубочок і нейрофіламентів. Мітохондрії полігональної форми з деструкцією крист, місцями матрикс мав пластівцеподібний вигляд. Цистерни агранулярної ендоплазматичної сітки помірно розширені, спостерігалися вогнищеві скупчення лізосом. Помітні явища периаksonального набряку. Цитоплазма шванноцитів вакуолізована. Субмікроскопічна будова більшості безмієлінових нервових волокон (БНВ) збережена. Лише в деяких із них виявлено вогнищеве просвітлення аксоплазми через нерівномірний розподіл нейрофібрил. В ядрах шванноцитів переважала периферійна конденсація хроматину. Визначалося розширення цистерн агранулярної ендоплазматичної сітки та деструкція крист мітохондрій.

На 7-у добу експерименту набряк ендоневрію зберігався паравазально. МНВ переважно середнього розміру, округлі, із набряком осьових циліндрів. Мієлінова оболонка частини нервових провідників однорідна, потовщена, в інших концентрично розшарована. В окремих МНВ визначалося відшнуровання фрагментів мієліну овальної форми, що лежали в площині осьового циліндра. Форма волокон малих метричних груп, в основному, наближалася до округлої, їхня мієлінова оболонка тонка, аксони набухлі, подекуди зморщені, неправильної зірчастої форми. Щільність мікротрубочок і нейрофіламентів аксоплазми неоднорідна, деякі з них хаотично орієнтовані. Мітохондрії нечисленні, вакуольно трансформовані, частина з них зруйновані. Цитоплазма шванноцитів містила перетворені на вакуолі цистерни ендоплазматичної сітки та диктіосоми комплексу Гольджі. Зміни структури БНВ проявлялися вогнищевим набряком аксоплазми. У цитоплазмі окремих нейролемоцитів ознаки гідропічної дистрофії, підвищена кількість лізосом.

15-а доба досліджу характеризувалася наявністю значної кількості МНВ великого діаметра. Набряк ендоневральної сполучної тканини більш виражений субпериневрально. У багатьох волокнах мієлінова оболонка концентрично розшарована. Окремі нервові провідники деформовані, їхні аксони зірчастої форми. Подекуди МНВ великого діаметра містили різко потовщену вакуолізовану мієлінову оболонку з численними випинаннями. У частини з них аксони атрофовані, гіперхромні, фрагментовані. МНВ середніх розмірів округлі, із набряклими осьовими

циліндрами. Нейрофіламенти та мікротрубочки нерівномірно розосереджені в гіалоплазмі. Визначалися вогнищеві скупчення зруйнованих мітохондрій. Цистерни агранулярної ендоплазматичної сітки розширені. БНВ із різним ступенем патологічних змін. У них виявлялося руйнування аксолеми осьових циліндрів та плазматичної мембрани шванноцитів. Аксоплазма нерівномірної електронної щільності. Мітохондрії дрібні, часом утворювали скупчення. Їхні кристи вкорочені або розріджені, матрикс середньої електронної щільності.

27-а доба характеризувалася вираженим поліморфізмом змін. Спостерігалися МНВ із вакуолізованою мієліновою оболонкою, набухлим округлим аксоном, в інших атрофовані осьові циліндри оточені різко потовщеною, деформованою мієліновою оболонкою. Нервові волокна малого діаметра нечисленні, мали округлу, зірчасту чи полігональну форму, нерідко містили зморщені аксони. Порушена архітектоніка нейрофіламентів і мікротрубочок із різко зміненою кількістю на окремих ділянках. У багатьох МНВ виражений набряк мієлінової оболонки поєднувався з гідропічною дистрофією нейролемоцитів. У деяких осьових циліндрах визначалися скупчення великої кількості вакуольно змінених мітохондрій. Траплялися поодинокі МНВ з ознаками демієлінізації.

На 60-у добу експерименту більша частина МНВ представлена провідниками середнього та малого діаметра, проте виявлялися волокна дуже великих розмірів. Серед них візуалізувалися волокна з атрофованими осьовими циліндрами. Мієлінова оболонка формувала віяло-, пальце-, грибоподібні інвагінації та випинання. В окремих МНВ визначалася демієлінізація. Нейрофіламенти осьових циліндрів орієнтовані хаотично, вогнищеві скупчені. Окремі пучки містили волокна зі збереженою структурою, архітектоніка їхньої мієлінової оболонки не порушена. На 90-у добу переважали компактно розміщені округлі МНВ середніх розмірів, їхня мієлінова оболонка місцями стоншена, аксон набухлий. Спостерігалися нервові провідники з деформованими осьовими циліндрами. Поодинокі МНВ містили інтрааксональні вакуолі, вогнищеві скупчення незмінених або частково зруйнованих мітохондрій, численних лізосом. У частині МНВ зберігався набряк цитоплазми нейролемоцитів. Мітохондрії переважно великі, округлі.

На 120-у добу більшість нервових волокон за розмірами наближалися до контрольної групи, проте зберігався набряк осьових циліндрів, які набували неправильну округлу форму. Контури мієлінової оболонки чіткі, як правило гладкі. Інколи виявлялися МНВ середнього діаметра зі зморщеними аксонами та гіпертрофованою мієліновою оболонкою, внутрішні контури якої формували випинання різної форми та висоти. Визначалися МНВ малого діаметра з тонкою мієліновою оболонкою. МНВ дуже великого діаметра з явищами гіпертрофії та гіперплазії мієлінової оболонки, які траплялися в попередні терміни дослідження, нечисленні.

Описані в нашій роботі порушення структури мієлінової оболонки співзвучні з результатами Y. Mimura et al. [9]. Проте не всі дослідники поділяють думку щодо можливості деструкції мієліну при П-індукованих нейропатіях [5]. Водночас ми підтримуємо зроблені цими та іншими авторами [7, 15] висновки щодо ураження мітохондрій МНВ і БНВ як важливого фактора патоморфогенезу нейропатій, зумовлених токсичним впливом П. Наші дослідження підтвердили результати робіт G. Cavaletti et al. [2, 3] про дезорганізацію нейротубулярного апарату при П-індукованих нейропатіях. Однак ми не можемо погодитись із висновками R.C. Polomano et al. [13], які не виявили суттєвих порушень структурної організації нервових волокон при "низькодозових" моделях П-індукованої периферійної нейропатії.

Висновок

Паклітаксел-індуковане ураження МНВ СН носить мозаїчний характер та перебігає в три періоди. Перший триває з 1-ї до 7-ї доби після останнього введення препарату і характеризується набуханням осьових циліндрів та набряком мієлінової оболонки, порушеннями архітектоніки мікротрубочок і нейрофіламентів осьових циліндрів, деструкцією мітохондрій аксонів та шванноцитів, які є проявом первинної реакції на токсичну дію середника на тлі набряку ендоневрію. Із 15-ї до 60-ї доби триває друга стадія, якій притаманні прогресуюча дегенерація осьових циліндрів, набряк, деформація та фрагментація мієлінової оболонки, демієлінізація та деструкція нервових волокон, дистрофічні зміни шванноцитів (15-а – 27-а доби). У БНВ виявляється набряк аксоплазми осьових циліндрів, органел цитоплазми шванноцитів. Із 27-ї по 60-у добу визначаються явища нейролемоцитарної та, меншою мірою, макрофагальної резорбції фрагментів пошкоджених мієлінових волокон. У третьому періоді (90-а – 120-а доби) переважають

процеси регенерації нервових волокон, однак повного відновлення їхньої структури та метричних параметрів не спостерігається.

Список літератури

1. Augusto C. Peripheral neuropathy due to paclitaxel: study of the temporal relationships between the therapeutic schedule and the clinical quantitative score (QST) and comparison with neurophysiological findings / C. Augusto, M. Pietro, M. Cinzia [et al.] // J. Neurooncol. – 2008. – 86(1). – P. 89–99.
2. Cavaletti G. Cavaletti G. Experimental peripheral neuropathy induced in adult rats by repeated intraperitoneal administration of Taxol / G. Cavaletti, G. Tredici, M. Braga // Exp. Neurol. – 1995. – Vol. 133 (1). – P. 64–72.
3. Cavaletti G. Effect on peripheral nervous system of the short-term intravenous administration of paclitaxel in the rat / G. Cavaletti, E. Cavaletti, P. Montaguti // Neurotoxicology. – 1997. – Vol. 18 (1). – P. 137–145.
4. Canta A. Rat in vivo models of taxanes' peripheral neurotoxicity following chronic intravenous administration / A. Canta, F. Lanzani, S. Galbiati [et al.] // J. Periph. Nervous System. – 2000. – Vol. 9, №2. – P. 101–104(1).
5. Flatters S.J. Studies of peripheral sensory nerves in paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy: Evidence for mitochondria dysfunction / S.J. Flatters, G. Bennett // Pain. – 2006. – Vol. 122 (3). – P. 245–257.
6. Guastalia J. P. The Taxanes: toxicity and quality of life considerations in advanced ovarian cancer / J.P. Guastalia, V. Dieras // Brit. J. Cancer. – 2003. – №89(3). – C. 16-22.
7. Jin H. W. Prevention of paclitaxel-evoked painful peripheral neuropathy by acetyl-L-carnitine: Effects on axonal mitochondria, sensory nerve fiber terminal arbors, and cutaneous Langerhans cells / H.W. Jin, S.J.L. Flatters, W.H. Xiao [et al.] // Exp. Neurol. – 2008. – Vol. 210. – P. 229–237.
8. Kuroi K. Neurotoxicity of Taxanes: Symptoms and Quality of Life Assessment / K. Kuroi, K. Shimozuma // Breast Cancer. – 2004. – Vol. 11, №1. – P. 92-99.
9. Mimura Y. Schedule dependency of paclitaxel-induced neuropathy in mice: a morphological study / Y. Mimura, H. Kato, K. Eguchi [et al.] // Neurotoxicol. – 2000. – Vol. 21 (4). – P. 513–520.
10. Mielke S. Association of Paclitaxel pharmacokinetics with the development of peripheral neuropathy in patients with advanced cancer / S. Mielke, A. Sparreboom, S.M. Steinberg [et al.] // Clin. Cancer Res. – 2005. – №11(13). – P. 4843-4850.
11. Polomano R.C. A painful peripheral neuropathy in the rat produced by the chemotherapeutic drug, Paclitaxel / R.C. Polomano, A.J. Mannes, U.S. Clark [et al.] // Pain. – 2001. – №94(3). – P. 293–304.
12. Persohn E. Morphological and morphometric analysis of paclitaxel and docetaxel-induced peripheral neuropathy in rats / E. Persohn, A. Canta, S. Schoepfer [et al.] // Eur. J. Cancer. – 2005. – Vol. 56, №10. – P. 1460-1466.
13. Polomano R.C. A painful peripheral neuropathy in the rat produced by the chemotherapeutic drug, Paclitaxel / R.C. Polomano, A.J. Mannes, U.S. Clark [et al.] // Pain. – 2001. – Vol. 94 (3). – P. 293–304.
14. Quasthoff S. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy / S. Quasthoff, H.P. Hartung // J. Neurol. – 2002 – №249(1) – P. 9–17.
15. Xiao W. H. Mitochondrial abnormality in sensory, but not motor, axons in paclitaxel-evoked painful peripheral neuropathy in the rat / W.H. Xiao, H. Zheng, F.Y. Zheng [et al.] // Neuroscience. – 2011. – Vol. 199. – P. 461–469.

Реферат

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПАКЛИТАКСЕЛ-ИНДУЦИРОВАННАЯ ПЕРИФЕРИЧЕСКАЯ НЕЙРОПАТИЯ: УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕРВНЫХ ВОЛОКОН

Экспериментальная работа посвящена электронномикроскопическому изучению патоморфологических изменений нервных волокон под влиянием Паклитаксела. Препарат вводили внутривентриально белым крысам в дозе 2 мг / кг через день 4 раза. Забор седалищных нервов проводили на 1, 7, 15, 27, 60, 90, 120 сутки после последнего введения. Выявлены следующие изменения ультраструктуры миелиновых нервных волокон: гипертрофия и диссоциация миелиновой оболочки с образованием межламеллярных вакуолей, отек и атрофия осевых цилиндров с нарушением упорядоченной ориентации нейротубул и нейрофиламентов, повреждение митохондрий осевых цилиндров и нейролеммоцитов, дегенерация нервных проводников и явления частичной ремиелинизации.

Ключевые слова: паклитаксел, электронная микроскопия, нервные волокна, периферическая нейропатия.

Статья надійшла 24.03.2015 р.

EXPERIMENTAL PACLITAXEL-INDUCED PERIPHERAL NEUROPATHY: ELECTRON MICROSCOPIC CHANGES OF NERVE FIBERS

This paper presents the experimental work devoted to electron microscopy study of pathomorphological changes in nerve fibers under the influence of Paclitaxel. This antitumor drug was administered to rats intraperitoneally at a dose of 2 mg/kg 4 times every other day. Sciatic nerves sampling of animals was taken on 1, 7, 15, 27, 60, 90, 120 days of experiment. The following ultrastructural changes of myelinated nerve fibers have been identified: hypertrophy and myelin sheath delamination resulting in formation of interlamellar vacuoles; swelling and atrophy of axial cylinders with diffuse distribution of neurotubules; cristae diffidence; homogenization and vacuolic transformation of mitochondrial matrix; complete nerve degeneration and remyelination.

Key words: paclitaxel, electron microscopy, nerve fibers, peripheral neuropathy.

Рецензент Чайковський Ю.Б.