

Література

1. Аль-Шукри С. Х. Общие принципы лечения больных раком мочевого пузыря. Значение клинических гистологических и биологических факторов прогноза для выбора метода лечения / С. Х. Аль-Шукри, И. А. Корнеев, А. С. Шукри // *Практ. онкоурология* : избр. лекции / под. ред. А. В. Воробьева, С. А. Тюляндина, В. М. Моисеенко. – СПб. : Центр ТОММ, 2008. – С. 115–132.
2. Диагностика и прогнозирование рецидива немышечно-инвазивного рака мочевого пузыря при помощи клинических и молекулярно-цитогенетического методов исследования / О. Б. Карякин, А. В. Севаньяев, Г. Ф. Михайлова [и др.] // *Онкоурология* : материалы V конгр. Рос. общества онкоурологов, (Москва, 6–8 окт. 2010 г.). – М., 2010. – С. 141–142.
3. Исследование UBC-антигена как возможного уринологического маркера рака мочевого пузыря / Н. С. Сергеева, И. А. Родина, И. Г. Русаков [и др.] // *Рос. онкологич. журн.* – 2004. – № 1. – С. 30–33.
4. Каприн А. Д. Мониторинг больных поверхностным раком мочевого пузыря / А. Д. Каприн, А. А. Костин, С. В. Гармаш // *Онкоурология* : материалы I конгр. Рос. общества онкоурологов, (Москва, 4–5 окт. 2006 г.). – М., 2006. – С. 86.
5. Лоран О. Б. Определение критериев эффективности адьювантной иммунотерапии поверхностного рака мочевого пузыря / О. Б. Лоран, В. Л. Медведев, Н. В. Будник // *Урология*. – 2005. – № 1. – С. 3–4.
6. Русаков И. Г. Хирургическое лечение, химио- и иммунотерапия больных поверхностным раком мочевого пузыря / И. Г. Русаков, А. А. Быстров // *Практическая онкоурология* : избр. лекции / под. ред. А. В. Воробьева, С. А. Тюляндина, В. М. Моисеенко. – СПб. : Центр ТОММ, 2008. – С. 133–147.
7. Темкин И. С. Опухоли мочевого пузыря, вызванные канцерогенными аминокислотами / И. С. Темкин. – М., 1962. – 331 с.
8. Measuring soluble forms of extracellular cytokeratin 18 identifies both apoptotic and necrotic mechanisms of cell death produced by adenoviral-mediated interferon alpha: possible use as a surrogate marker / M. B. Fisher, X. O. Zhand, D. J. McConkey, W. F. Benedict // *Cancer Gene. Ther.* – 2009. – Vol. 16, № 7. – P. 567–572.

Костюк А.Г., Король А.П., Костюк Г.Я., Костюк В.Г., Безжорвайный О.Э., Бурков Н.В., Голубовский И.А.

Ультраструктурные изменения в стенке мочевого пузыря при поверхностном раке мочевого пузыря и его лечение новым способом

Резюме. В статье приводятся результаты исследования ультра-

структурных изменений в стенке мочевого пузыря при подслизистом введении доксорубина или митомидина-С с целью лечения поверхностного рака мочевого пузыря. Установлено, что введение в подслизистую основу стенки мочевого пузыря 0,0125% раствора доксорубина или митомидина-С не вызывает выраженных патологических изменений в структуре стенки мочевого пузыря. Введение в подслизистую основу мочевого пузыря 0,0125% раствора доксорубина или митомидина-С в количестве 15–20 мл дало возможность исключить летальные случаи у 13 животных в течение 1–2 лет, что составляет 100%. Четыре животных были выведены из эксперимента через год (31%). У 4 животных из 9 (69%) установлено рецидив рака мочевого пузыря через 2 года после подслизистого введения растворов химиопрепаратов, тогда как у остальных 5 животных через 2 года после подслизистого введения химиопрепаратов макроскопически слизистая МП была подобна таковой у интактных животных. При микроскопическом и электронномикроскопическом исследовании установлен склероз в подслизистой основе и мышечной оболочке.

Ключевые слова: ультраструктурные изменения, поверхностный рак мочевого пузыря.

O.G. Kostyuk, A.P. Korol', G.Ya.Kostyuk, V.G. Kostyuk, O.E. Bezjorvayny, M.V. Burkov, I.A. Golubovskiy

Ultrastructural Changes in the Bladder Wall with Superficial Bladder Cancer and its Treatment in a New Way

Summary. The article presents results of a study of ultrastructural changes in the bladder wall with submucosal injection of doxorubicin and mitomycin-C for the treatment of superficial bladder cancer. The injection of submucosa into the bladder wall of 0.0125% solution of doxorubicin and mitomycin-C does not cause the pathological changes in the structure of the bladder wall. Introduction to the submucosa of the bladder 0.0125% solution of doxorubicin and mitomycin-C in the amount of 15–20 ml made it possible to exclude fatalities in 13 animals for 1–2 years, which is 100%. Four animals were withdrawn from the experiment in a year (31%). In 4 of 9 animals (69%) found bladder cancer recurrence within 2 years after the submucosal injection of chemotherapy, while the remaining 5 animals 2 years after submucosal injection of chemotherapy macroscopically mucous of bladder was similar to that of intact animals. A microscopic and ultrastructural study set sclerosis in the submucosa and muscular layer.

Keywords: ultrastructural changes, superficial bladder cancer.

Надійшла 01.03.2013 року.

УДК 611.82.2/3+611.822.2.

Левицький В.А.

Апоптоз та некроз складових компонентів простої рефлекторної дуги протягом постнатального періоду онтогенезу

Івано-Франківський національний медичний університет

Резюме. Вивчали кількісні та якісні зміни складових компонентів простої рефлекторної дуги (рухових і чутливих нейронів, нервових волокон вентральних і дорзальних корінців та серединного нерва) C₅ - T₁ сегментів спинного мозку 143 безпородних собак протягом постнатального періоду онтогенезу. Встановлено, що основною причиною кількісного зменшення всіх складових компонентів простої рефлекторної дуги в ранньому періоді постнатального розвитку (від дня народження до 2 років) є апоптоз. У зрілому віці тварин (2–8 років) явища апоптозу в складових компонентах простої рефлекторної дуги затихають. У старечому (10 років) і похилому (15 років) віці тварин в загальній кількості загиблих тварин і нервових волокон апоптоз складає відповідно 63–72% і 22–30%. Решта частина ланок простої рефлекторної дуги гине за рахунок некрозу.

Ключові слова: нервова клітина, нервеве волокно, апоптоз, некроз, онтогенез.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

Протягом останніх десятиліть в біології і медицині сформувався чіткий уявлення про генетично запрограмовану смерть клітин (апоптоз), яка суттєво відрізняється від їх некрозу. Вперше цей термін з'явився в літературі у 1972 р. [26], але ще у 1951 р. А. Glucksmann [21] розглянув приклади смерті клітин як складової частини програми розвитку хребетних. Зараз процес апоптозу вважається таким же важливим і невід'ємним для формування і функціонування багатоклітинних організмів, як і проліферація та диференціація клітин [7,35]. Запрограмована смерть клітин нервової, репродуктивної, імунної та інших систем в процесі розвитку організму характеризується унікальним рядом морфологічних і біохімічних змін [11,28]. Подібні чи ідентичні зміни характерні і

для клітин, що гинуть протягом життя організму у відповідь на різноманітні фізіологічні і патофізіологічні стимули. Апоптоз відіграє важливу роль у гомеостатичному оновленні клітин різних тканин і у клітинній відповіді на пошкодження її різноманітних мембранних структур і ДНК [34,35]. Він лежить в основі негативної селекції автореактивних лімфоцитів, смерті активованих лімфоцитів після виконання ними функцій і цитолізу клітин-мішеней Т-кілерами [11,18]. Апоптоз або його порушення - важливий компонент різноманітних патологічних процесів, включаючи канцерогенез [27], деякі нейродегенеративні хвороби [32], аутоімунні та імунодефіцитні стани [11,18], захворювання серцево-судинної і репродуктивної систем [22,30], інфекційну патологію [36]. Протягом постнатального періоду онтогенезу апоптоз відіграє важливу роль у кількісних і якісних змінах структурних компонентів простої рефлекторної дуги, на що вказують проведенні нами дослідження.

Мета дослідження. Вивчити кількісні і якісні зміни складових компонентів простої рефлекторної дуги протягом постнатального періоду онтогенезу.

Матеріал і методи дослідження

Матеріалом дослідження стали елементи простої рефлекторної дуги, зокрема, передні роги сірої речовини спинного мозку, спинномозкові ганглії, вентральні і дорзальні корінці C_5 - T_1 сегментів спинного мозку та серединний нерв собак різних вікових груп (новонароджені, 3-, 7-, 14 днів, 1-, 2-, 6 місяців, 1-, 2-, 5-, 8-, 10-, 15 років і більше) в постнатальному періоді онтогенезу. У кожному віці використано матеріал правої сторони 11 безпорядних дворкових собак. Всього у дослідках було задіяно 143 тварини. Еутаназію тварин для забору матеріалу здійснювали під тіопенталомим наркозом шляхом кровопускання із нижньої порожнистої вени. Використали методи виявлення нервових та гліальних клітин спинномозкових гангліїв і рухових спінальних центрів за Ніслем і Ренсоном, фарбування геметоксиліном і еозином та на напівтонких зрізах; виявлення нейронів рухового та чутливого пулів серединного нерва з допомогою пероксидази хрину за Mesulam, виявлення нервових волокон у вентральних і дорзальних корінцях спинного мозку та у серединному нерві за Кульчицьким, Масоном і Ренсоном та на напівтонких зрізах. Кількість нейронів у рухових ядрах пластини IX сірої речовини досліджуваних сегментів спинного мозку та спинномозкових вузлів підраховували під мікроскопом на серійних зрізах. Кількість нервових волокон у вентральних і дорзальних корінцях спинного мозку та серединному нерві визначали на площі їх поперечного перерізу під мікроскопом з допомогою лічильної сітки або на мікрофотографіях шляхом послідовного проколонування голкою кожного зображення нервового волокна.

Результати дослідження

Апоптоз є основною причиною зменшення кількості нервових клітин у рухових центрах досліджуваних сегментів спинного мозку та у спинномозкових гангліях, зниження кількості нервових волокон у складі вентральних і дорзальних корінців та серединного нерва і його термінальних закінчень у ранньому періоді постнатального розвитку (від дня народження до 2-річного віку). Протягом цього терміну кількісний склад нейронів рухових ядер спинного мозку зменшується з $7795 \pm 197,0$ до $6839 \pm 207,3$, а спинномозкових гангліїв – з $27734 \pm 317,7$ до $24874 \pm 235,1$. Кількість нервових волокон у вентральних корінцях знижується з $26810 \pm 423,2$ до $21370 \pm 299,7$, у дорзальних корінцях – з $65795 \pm 916,9$ до $56360 \pm 770,4$, у серединному нерві – з $30760 \pm 454,0$ до $24835 \pm 329,7$. При цьому, ми відзначили, що зменшення кількості рухових нервових клітин здійснюється виключно за рахунок α -мотонейронів, а чутливих нейроцитів - завдяки великим світлим клітинам, тоді як кількість γ -отонейронів і малих темних клітин залишається менш-більш сталою. Так, кількість α -мотонейронів зменшується з $3166 \pm 79,2$ до $2266 \pm 66,8$, чутливих світлих клітин – з $22753 \pm 220,3$ до $19585 \pm 167,8$, числові ж показники γ -мотонейронів коли-

ваються в межах $4581 \pm 137,3$ - $4629 \pm 107,5$, а чутливих темних клітин – в межах $4981 \pm 46,1$ - $4999 \pm 42,3$.

У зрілому віці тварин (2-8 років) явища апоптозу у складових компонентах простої рефлекторної дуги затухають. У цьому ми переконалися, визначивши числові показники цих структурних компонентів. Так, кількість нервових клітин у рухових центрах коливається в межах $6813 \pm 208,7$ - $6847 \pm 217,1$, у спинномозкових гангліях - $24753 \pm 237,2$ - $24846 \pm 236,1$, кількість нервових волокон у вентральних корінцях - $21205 \pm 284,5$ - $21490 \pm 285,5$, у дорзальних корінцях - $56105 \pm 724,9$ - $56880 \pm 725,9$, у серединному нерві - $24685 \pm 341,2$ - $24970 \pm 354,4$.

У пізній стадії постнатального періоду онтогенезу (похилий та старечий вік собак – 10-15 років і більше) ми знову спостерігали зменшення кількості структурних компонентів простої рефлекторної дуги. Кількість нейронів у спінальних рухових центрах за цей період зменшувалася з $6813 \pm 208,7$ до $4937 \pm 137,8$, у спинномозкових гангліях – з $24753 \pm 237,2$ до $19184 \pm 186,7$, кількість нервових волокон у вентральних корінцях – з $21205 \pm 284,5$ до $13890 \pm 224,1$, у дорзальних корінцях – з $56105 \pm 724,9$ до $33365 \pm 511,8$, у серединному нерві – з $24970 \pm 354,4$ до $14715 \pm 222,6$. Причём, у похилому віці зменшення кількості нервових клітин у спінальних рухових центрах відбувається виключно за рахунок альфа мотонейронів, у спинномозкових гангліях – за рахунок великих світлих клітин, кількості нервових волокон у вентральних і дорзальних корінцях та серединному нерві – за рахунок мієлінових нервових волокон. У старечому ж віці, поряд із зменшенням вищезгаданих структурних компонентів простої рефлекторної дуги, відбувається зниження кількості гама мотонейронів у спінальних рухових центрах, малих темних клітин у спинномозкових гангліях, безмієлінових нервових волокон у вентральних і дорзальних корінцях та серединному нерві. При цьому, нами відмічено, що причиною їх зменшення у похилому віці головним чином є апоптоз (63-72% клітин гине таким шляхом), а у старечому віці – некроз, який захоплює 68-75% загальної кількості загиблих клітин.

Структурні прояви апоптозу дуже незначні. Вони практично не визначаються на світлооптичному рівні, оскільки продукти розпаду клітин швидко елімінуються. На електронно-мікроскопічному рівні на ранніх стадіях апоптозу спостерігається згущення цитоплазми нервових клітин, ущільнення органел, конденсація ядерного хроматину з утворенням щільних гранулярних структур, прилеглих до ядерної мембрани. Клітини зморщуються і фрагментуються, утворюючи кластер оточених мембраною апоптичних тілець, що містять цитоплазматичні органели і хроматинові фрагменти. Досить часто самі структури органел зберігаються, хоч інколи виявляються незвичайні агрегати мікрофіламентів цитоскелету і асоціації рибосом. Часто спостерігається розширення цистерн ендоплазматичної сітки. У зв'язку із втратою клітинними мембранами спеціалізованих утворень (різного виду вп'ячувань і вип'ячувань, десмосом), апоптичні нервові клітини втрачають тісний зв'язок із клітинами нейроглії – астроцитами і олігодендроцитами у спінальних рухових центрах і мангійними гліоцитами у спинномозкових гангліях. Навколо нейроно-гліальних комплексів і нервових волокон руйнуються базальні мембрани.

При некрозі в ядрах рухових та чутливих нервових клітин спостерігається частковий або тотальний хроматоліз, з'являються фібрилярні, вакуолеподібні та ліпідні включення, локально руйнується нуклеолема. У цитоплазмі відбувається редукція і руйнування цистерн і прикріплених рибосом ендоплазматичної сітки, дезагрегація і зникнення вільних рибосом і полісом, просвітлення матриксу мітохондрій з фрагментацією крист, деструкція пластинчастого комплексу, агрегація фрагментів мікротрубочок і нейрофіламентів, поява аутофагосом і мієліноподібних тілець, збільшення кількості жирових включень, що свідчить про порушення внутрішньоклітинних білоксинтезуючих і транспортних процесів та

ліпідного обміну, виснаження енергетичних ресурсів клітин.

Некроз рухових і чутливих нервових клітин закономірно торкається її провідникового апарату простої рефлекторної дуги (нервових волокон вентральних і дорзальних корінців та серединного нерва). У них спостерігаються аксональні та периаксональні зміни, які проявляються гіперімпрегнацією аксолеми, набряком аксоплазми, варикозними розширеннями і локальними звуженнями аксонів, їх фрагментацією. Мієлінова оболонка місцями вакуолізується, розширюється, сепарується від осьових циліндрів, розпадається на окремі крупно- та дрібнозернисті фрагменти. На ультраструктурному рівні в аксоплазмі відзначається зниження кількості мікротрубочок, агрегація нейрофіламентів в центральній частині аксона, руйнування мітохондрій, мієлін набуває войлокоподібного вигляду, цитоплазма нейролемоцитів набрякає, містить значну кількість лізосом і аутофосом із щільним вмістом, мембранозв'язаних і вільних овоїдних тілець. Це свідчить про посилення їх фагоцитарної активності і утилізацію ними продуктів розпаду мієліну. Слід відмітити, що у похилому віці відбувається переважно пошкодження проміжних щільних ліній мієліну, а у старечому віці деструкція захоплює і основні щільні лінії мієлінової оболонки. Особливо це стосується паранодальних ділянок цієї оболонки.

Обговорення

Процес апоптозу можна поділити на декілька стадій [28]. Первинна взаємодія зовнішнього стимулу із певним компонентом клітини приводить в рух один із декількох шляхів передачі сигналу клітинної смерті. Трансдукція сигналу здійснюється багатокомпонентною системою, окремі члени якої можуть служити позитивними і негативними регуляторами апоптозу. Баланс цих регуляторів зрештою визначає кінцевий результат, тобто виживання чи смерть клітини. Реалізують програму клітинної смерті, так звані термінальні, ефекторні механізми [35]. Різноманітні апоптичні стимули включають різні шляхи передачі сигналу на одні і ті ж еволюційно конзервативні ефекторні механізми, ключовими компонентами яких є окрема родина цистеїнових протеаз [33]. Останні забезпечують однаковий ряд термінальних протеолітичних реакцій, що пояснює характерну стереотипність апоптозу, незалежну від причини його ініціації. Як не дивно, але більшість, а можливо і всі клітини організму конституційно експресують компоненти апоптичного апарату, тобто потенційно здатні до самогубства. Проте до активації процесу молекули апарату смерті знаходяться в неактивній формі. Деякі з цих речовин можуть брати участь в реалізації інших клітинних процесів - росту, дозрівання, проліферації, диференціації, а стимули, що викликають апоптоз в одних умовах, можуть в інших умовах зумовлювати нелетальну відповідь організму.

Частина зовнішніх стимулів, що ініціюють процес апоптозу, є фізіологічними, зокрема деякі гормони, цитокіни, фактори росту, антигени [11,22,28]. Апоптогенним сигналом також може бути відсутність чи зниження вмісту в організмі регуляторних і трофічних факторів. Так, сигналом смерті нейронів у процесі розвитку нервової системи служить недостатність трофічних факторів, зокрема фактора росту нервів (ФРН) [32]. Стосовно раннього постнатального періоду онтогенезу, то уже самі роди є серйозним випробуванням для плода [12] і, на нашу думку, можуть бути причиною апоптозу. Вони ведуть до зміни умов перебування новонародженого і появи нового комплексу екстероцептивних сигналів [6]. Такі, поки що незвичайні для новонародженого організму, подразнення викликають посилення аферентної імпульсації у спинний мозок і можуть стати однією з причин незворотніх змін чутливих і рухових нейронів [1]. Саме цей період, згідно з даними W. Cowan і співавторів [31], характеризується зменшенням і приведенням у відповідність кіль-

кості нейронів до величини ділянок аферентної і еферентної інервації. Крім того, як свідчать результати наших досліджень і дані літератури [24,25], у ранньому постнатальному періоді онтогенезу відбувається ліквідація полінейрональної інервації окремих м'язових волокон. Наступним суттєвим моментом у зменшенні кількості нервових елементів у складі простої рефлекторної дуги, на нашу думку, може бути недостатність їх живлення і аутоімунна агресія у зв'язку із незрілістю складових компонентів гемато-енцефалічного бар'єру [29]. Крім того, в період організації взаємозв'язків між різними відділами мозку, які розвиваються, і периферичними органами (період початкового формування функціональних систем), ступінь пошкодження нервових клітин значно зростає [2].

Все ж, як вважають окремі автори [28,33], ключовими ефекторними білками апарату запрограмованої смерті клітин є окрема родина (ICE/CED3) цистеїнових протеаз, недавно названих каспазами [13]. Каспази структурно і функціонально гомологічні протеази CED-3, продукту гена, необхідного для запрограмованої смерті клітин нематої *Caenorhabditis elegans*, відкриття якого було першим доказом генетичної основи програми апоптозу [19]. Каталізують каспази реакцію розщеплення у білкових субстратах пептидних зв'язків, утворених карбоксильною групою аспартату. У клітинах людини ідентифіковано більше десяти ферментів цієї родини [33]. Всі вони синтезуються у формі проферментів, які внаслідок протеолізу в Асп-Х-сайтах утворюють каталітично активні гетеродимерні молекули. Активація здійснюється протеазами з подібною специфічністю або автокаталітично [18,33].

Каспаза-1 відома як фермент, що каталізує розщеплення неактивного проінтерлейкіну ІЛ-1 β з утворенням активного цитокіну (ICE - інтерлейкінперетворюючий фермент). Каспаза-1 не бере участі у запрограмованій смерті клітин під час процесу розвитку організму, але, вірогідно, необхідна для апоптозу, що супроводжується вивільненням прозапального ІЛ-1 β [18]. Інші члени родини ICE/CED-3 (каспаза 3 і, вірогідно, каспази 6 і 7) беруть участь в ефекторній фазі апоптозу клітин різних типів, а каспаза-8 та, ймовірно, каспаза-10 - в регуляції цього процесу [18,33]. Профермент каспази-8 є білком FLICE (fasactivated protein like ICE), компонентом сигнального комплексу, що ініціює клітинну смерть [28,35]. Активована каспаза-8 шляхом протеолізу далі активує каспазу-3 і її гомологи, відповідальні за реалізацію термінальних реакцій апоптозу [18]. Встановлено, що каспаза-3 і її гомологи каталізують деградацію ряду білків, важливих для підтримання нормальних клітинних функцій і структурної цілісності клітини [16]. До структурних білків, які розщеплюються каспазами, відносяться білки цитоскелету (фодрин, актин, Gas-2), білки, що підтримують цілісність структури ядра (ламіни, NuMA). Втрата функцій перечислених та, вірогідно, ще не відкритих білкових субстратів клітин під впливом каспаз зумовлює швидкі, майже одночасні, зміни їх структури, характерні для апоптозу, та забезпечує незворотність процесу [16,35].

У пізньому постнатальному періоді онтогенезу в елементах простої рефлекторної дуги теж відбуваються регресивні зміни, але їх механізм і ступінь вираженості мають якісно відмінний характер. Якщо в ранньому постнатальному періоді такі явища короткочасні і зумовлені пристосуванням організму до нових умов існування та формуванням його різних морфо-функціональних систем, то в пізньому періоді вони значно триваліші і пов'язані з усіма процесами, які лежать в основі старіння.

Старіння - біологічний руйнуючий процес, який неминує розвивається з віком і веде до обмеження адаптаційних можливостей організму [9]. Його пов'язують із накопиченням в клітинах неусувних продуктів обміну речовин, "шлаків життя", вільних радикалів і виникненням свосерідних ланцюгових реакцій, які, в кінцевому результаті, ведуть до заги-

білі клітин різних тканин [10]. На думку цих же авторів, вільні радикали порушують цілісність мембран лізосом і підвищують їх проникливість для нуклеаз. Останні виходять в цитоплазму і пошкоджують геном клітин. Можливо, в цьому процесі беруть участь і іони важких металів [17]. Старіння супроводжується також активізацією локусів хроматину, які визначають синтез антитіл на певний вид білків. Такі явища зумовлюють утворення в організмі антитіл на власні білки і пошкодження імунними комплексами окремих клітин і тканин [14].

Як ми уже зазначили, у похилому та старечому віці збільшується кількість нейרוцитів з явищами некрозу. У початкових стадіях некрозу в ядрах таких клітин спостерігається частковий або тотальний хроматоліз, з'являються фібрилярні, вакуолеподібні та ліпідні включення, наявність яких, як стверджують А.С.Ступина і співавтори [4], зменшує ефективний ядерний об'єм і лежить в основі пускового механізму старіння. Їх появу пояснюють зменшенням рівня циклічного аденозинмонофосфату [20], зниженням інтенсивності метилювання ДНК і її реплікації [17], змінами співвідношення "активного" і "неактивного" хроматину [23], гістонової і негістонової фракції ядерних білків [15]. Сприятливими факторами розвитку деструктивних процесів у нейронах є також ішемія і гіпоксія, які є проявом серцево-судинної патології в пізньому періоді постнатального онтогенезу [5].

Вищеописані ультраструктурні зміни ядра в комплексі із змінами цитоплазматичних органел (редукція цистерн і прикріплених рибосом ендоплазматичної сітки, дезагрегація і зникнення вільних рибосом і полісом, просвітлення матриксу мітохондрій з фрагментацією крист, деструкція пластинчастого комплексу, агрегація мікротрубочок і нейрофіламентів, поява аутофагосом і збільшення кількості ліпофусцинових тілець), свідчать про порушення ліпідного обміну і білоксинтезуючого апарату та виснаження енергетичних ресурсів клітин [9, 23] і лежать в основі їх некрозу [3, 5].

Поряд із вищеописаними деструктивними змінами ядерно-цитоплазматичних компонентів, в окремих нейроцитах спостерігаються органели, структурна перебудова яких спрямована на збереження їх життєдіяльності. Зокрема, збільшення площі ядерно-цитоплазматичних контактів за рахунок інвагінацій ядерної мембрани, наявність дрібних і незмінених мітохондрій та лізосом, які розміщуються поряд з локально гіпертрофованими цистернами гранулярної ендоплазматичної сітки і входять до складу, так званих, структурно-функціональних комплексів, сприяють компенсації білоксинтезуючих процесів і енергозабезпеченню всіх внутрішньоклітинних репаративних явищ [4,8]. Цим ми підтверджуємо положення адаптаційно-регуляторної теорії старіння [9] про те, що віковий розвиток визначається взаємодією двох протилежних процесів: старіння і вітаукта.

Таким чином, протягом постнатального періоду онтогенезу, у складових компонентах простої рефлекторної дути, спостерігаються два явища: апоптоз і некроз. Апоптоз переважає у ранньому періоді постнатального розвитку, некрозу пізньому.

Література

1. Авакян Л.А., Худавердян Д.Н. Изменения ультраструктуры синапсов и двигательных нейронов вентральных рогов спинного мозга у кошек с паратиреопривной тетанией // Арх. анат., гистол. и эмбриологии. - 1984. - Т.86, №6. - С. 15-20.
2. Анохин П.К. Очерки по физиологии функциональных систем. - М.: Медицина, 1975. - 314 с.
3. Влияние сосудистого фактора и старения на ультраструктуру нейронов коры головного мозга человека / Фрумкина Л.Е., Яковлева Н.И., Воробьева Т.В. и соавт. // Арх. анат., гистол. и эмбриологии. - 1989. - Т. 97, № 10. - С. 5-12.
4. Внутрядерные включения в клетках различных тканей у крыс при старении / Ступина А.С., Квитницкая-Рыжова Т.Ю., Межиборская Н.А. и соавт. // Арх. анат., гистол. и эмбриологии. - 1987. - Т.92, №2. -

С. 24-31.

5. Возрастные особенности ультраструктуры различных клеток при острой гипоксии / Ступина А.С., Квитницкая-Рыжова Т.Ю., Межиборская Н.А. и соавт. // Арх. анат. гистол. и эмбриологии. - 1989. - Т. 97, №12. - С. 25-31.
6. Гармашева Н.Л. Критические периоды развития центральной нервной системы человека в раннем онтогенезе // Арх. анат., гистол. и эмбриологии. - 1988. - Т. 94, № 6. - С. 9-16.
7. Матьшевская О.П. Биохимические аспекты вызванного радиацией апоптоза // Укр. биохим. журн.-1998.-70 №5.-С.15-29.
8. Моторина М.В. О структуре моторных ядер спинного мозга крысы в постнатальном онтогенезе // Арх. анат., гистол. и эмбриологии. - 1980.- Т. 78, №3. - С. 33-42.
9. Фролькис В.В. Старение. Нейрогуморальные механизмы. - Киев: Наукова думка, 1981. - 205 с.
10. Эмануэль М.Н., Бучаченко А.Л. Химическая физика, старение и стабилизация полимеров. - М., 1982. - 320 с.
11. Ярилин А.А. Апоптоз и его место в иммунных процессах // Иммунология.-1996.-№6.-С.10-23.
12. Яценко В.П. Морфология и реактивные изменения афферентных нейронов сенсорного ганглия в онтогенезе // Дисс. ... докт. мед. наук. - Киев, 1989. - 508 с.
13. Ainemn E.S. Zivmgstan D.J., Nicholans D.W. etal, Human ICE/ CED-3 protease nomenclature //Cell.-1996.-87 .-P. 171.
14. Bumet F.M. Intrinsic mutagenesis a genetic approach to ageing. - Lancaster, 1974. - 215 p.
15. Buschman M.B.T. Brain structure and its implication in metabolism in aging: a review // Amer.J.Clin.Nutr. -1982. - Vol. 36, № 4. - Suppl. -P. 759-765.
16. Casciola-Rosen Z.A., Nicholson D.W., Chond T. Et al. Apopain / CPP32 cleaves proteins that are essential for cellular repair: a fundamental principle of apoptotic death //J. Exp. Med.-1996.-183.-P. 1957-1964.
17. Cutler R.G. Evolution of human longevity, a cristal overview. - Mech.Ageing Develop. - 1979. - Vol. 9. - P. 337.
18. Ekert P.O., Vaux D.Z. Apoptosis and the immune system // Br. Med. Bulletin.-1997.-53, №3.-P.591-603.
19. Ellis H.M., Horvitz H.R. Genetic control of programmed cell death in the nematode *Caenorhabditis elegans* //Cell.-1986.-44.-P.817-829.
20. Fernandez B., Suarez I., Gytierrez C. Intranuclear inclusions in hypothalamic neurons: a study in the ageing hamster // J. Submicrosc. Cytol. - 1984. - Vol. 16, № 3. - P. 495-501.
21. Glucksmann A. Cell deaths in normal vertebrate development // Biol.rev.-1951.-26.-p.59-86.
22. Gosden R.,Spears N. Programmed cell death in the reproductive system // Br. Med. Bulletin.-1997.-53, №3.-P.644-661.
23. Hayflick L. Intracellular determinants of cell aging // Mech. Agein. Dev. - 1984. - Vol. 28, № 2-3. - P. 17-185.
24. Hopkins W., Brown M., Keynes R. Postnatal growth of motor nerve terminals in muscles of the mouse // J. Neurocytol. - 1985. - Vol. 14, № 4. - P. 525-540.
25. Hulsebosch C., Coggeshall R., Chung K. Numbers of rat dorsal root axons and ganglion cells during postnatal development // Dev. Brain Res. - 1986. - Vol. 26, № 1. - P. 105-113.
26. Kerr J.F.R., Wyllie A.H., Currie A.R. Apoptosis: a basic biological phenomenon wide-ranging implications in tissue kinetics // Br.Cancer.-1972.-26.-P.239-257.
27. Lyons S.K., Clarke A.R. Apoptosis and carcinogenesis // Br. Med. Bulletin.-1997.-53, №3.-P.554-569.
28. Milligan C.E., Schwartz Z.M. Programmed cell death during animal development // Br. Med. Bulletin.-1997.-№3.-P.570-590.
29. Mitchel Y.M., Williams J.s., Bosh E.P. Class II antigen expression in peripheral neuropathics // Neurol. Sci. - 1991. - Vol. 102, № 2. - P. 170-176.
30. Olivetti G., Abbi R., Quaini F. et al. Apoptosis and the failing human heart //N.Engl.J.Med.-1996.-336.-P.1131-1141.
31. Regressive events in neurogenesis / Cowan W.M., Fawcett J.W., O'Leary D.M. et al // Science. -1984. -Vol. 225, №4668. -P.1258-1265.
32. Rubin Z.Z. Neuronal cell death: when, why and how // Br. Med. Bulletin.-1997.-53, №3.-P.617-631.
33. Thornberry N.A. The caspase family of cysteine proteases // Br. Med. Bulletin.-1997.-53, №3.-P.478-490.
34. White E. Life, death and the pursuit of apoptosis //Genes Dev.-1996. -10.-P.1-15.
35. Wyllie A.H. Apoptosis: an overview // Br. Med. Bulletin.-1997.-53, № 3.-P.451-465.
36. Young Z.S., Dawson C.W. Eliopoulos A.G. Viruses and apoptosis // Br. Med. Bulletin.-1997.-53, №3.-P.509-521.

Левицкий В.А.

Апоптоз и некроз составных компонентов простой рефлекторной дуги на протяжении постнатального периода онтогенеза

Резюме. Изучали количественные и качественные изменения составных компонентов простой рефлекторной дуги (двигательных и чувствительных нейронов, нервных волокон вентральных и дорзальных корешков и срединного нерва) на уровне $C_5 - T_1$ сегментов спинного мозга 143 беспородных дворовых собак на протяжении постнатального периода онтогенеза. Установлено, что основной причиной количественного уменьшения всех составных компонентов простой рефлекторной дуги в раннем периоде постнатального развития (от дня рождения до 2 лет) есть апоптоз. В зрелом возрасте животных (2-8 лет) явления апоптоза в складовых компонентах простой рефлекторной дуги затихают. В пожилом (10 лет) и старческом (15 лет) возрасте животных в общем количестве погибших нервных клеток и нервных волокон апоптоз составляет соответственно 63-72% и 22-30%. Остальная часть звеньев простой рефлекторной дуги гибнет за счет некроза.

Ключевые слова: нервная клетка, нервное волокно, апоптоз, некроз, онтогенез.

V.A. Levitsky

Apoptosis and Necrosis of Simple Reflex Arch's Component Parts During Postnatal Period of Ontogenesis

Summary. During postnatal period of the ontogenesis we have studied qualitative and quantitative changes of the simple reflex arch's component parts (motor and sensor neurons, nerve fibers of the ventral and dorsal roots and median nerve) on the level $C_5 - T_1$ of the 143 dog's spinal cord. We have distinguished that apoptosis is the main cause of the death of the simple reflex arch's component parts during early period of the postnatal development of the dog's organism (from day of the birth to 2 years). In the adult dogs (from 2 to 8 years) apoptosis of the nerve cells and fibers has gone out slowly. In the old (10 years) and senil (15 years) animals apoptosis provoked 63-72% and 25-32% cell's death among common cell's death. Necrosis is the main cause of the death for the other part of the neurons and nerve fibers.

Key words: nerve cell, nerve fiber, apoptosis, necrosis, ontogenesis.

Надійшла 01.03.2013 року.

УДК 611.716.4:616.718.5-089.843-092.9:661.842.455

Лузин В.И., Морозов В.Н., Астраханцев Д.А.

Возрастные особенности ультраструктуры биоминерала дентина резца нижней челюсти крыс

Кафедра анатомии человека (зав. каф. - проф. В.И.Лузин) ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

Резюме. В данной статье изучены особенности ультраструктуры биоминерала дентина резца нижней челюсти интактных крыс различного возраста. Установлено, что у неполовозрелых крыс имел место активный рост и формирование элементарных ячеек биоминерала дентина резца и увеличение упорядоченности строения его кристаллической решетки. У половозрелых крыс темпы роста элементарных ячеек биоминерала замедлялись и наблюдались первые проявления генерализованного пародонтоза в поздние сроки наблюдения, а у крыс старческого возраста – выявленные изменения усиливались, увеличивалась степень аморфности и уменьшалась степень упорядоченности строения кристаллической решетки биоминерала дентина резца нижней челюсти.

Ключевые слова: крысы, нижняя челюсть, резец, дентин, ультраструктура.

Постановка проблемы и анализ последних исследований.

Нижняя челюсть крыс является уникальным объектом экспериментальных исследований, что обусловлено особенностями ее происхождения, пре- и постнатального роста, макро- и микроскопического строения и особыми биомеханическими условиями, в которых она находится [2, 12].

Немаловажной составной частью нижней челюсти крыс, участвующей в захватывании и измельчении пищи, являются зубы. По мнению М. Н. Kuipers (1996) наибольший интерес для исследователей представляют резцы нижней челюсти, так как они способны к постоянному росту (2,8 мм в неделю) и обновлению своей структуры каждые 40–50 дней [16].

Основная часть резца крыс образована дентином, который рассматривается как специализированная костная ткань, так как содержит 70% неорганических веществ, 20% органических веществ и 10% воды [3, 4, 13]. Дентин, по сравнению с другими твердыми тканями (эмаль, цемент), является наиболее динамической тканью резца нижней челюсти, обладает высокой реактивностью на воздействие различных неблагоприятных экзо- и эндогенных факторов и поэтому широко используется для моделирования нарушений дентиногенеза различного этиологии в медико-биологических исследованиях [14].

Ультраструктура биоминералов кости, а также ее воз-

растная динамика, описаны достаточно полно [9]. В то же время ультраструктура биоминерала дентина в доступной литературе практически не освещена, а ее возрастная динамика не описана вообще.

В связи с этим, целью исследования явилось: при помощи метода рентгеноструктурного анализа изучить особенности ультраструктуры биоминерала дентина резца нижней челюсти интактных крыс различного возраста для создания массива контрольных значений, что позволит исследователям облегчить качественную и количественную оценку изменений в ультраструктуре дентина резца при воссоздании моделей различных заболеваний и патологических состояний дентина.

При этом следует учитывать, что метод рентгеноструктурного анализа позволяет рассчитать размеры кристаллических структур, имеющие порядок менее 1 M^{-10} с высокой точностью [8], и сравним по точности с методом электронной микроскопии. Единственное отличие этих методов друг от друга заключается в том, что в электронной микроскопии оценивается изображение солей тяжелых металлов, абсорбированных на биологических структурах, а в рентгеноструктурном анализе оценивается графическая запись интенсивности тормозного рентгеновского излучения, по которой математически рассчитывается размер искомого структур.

Материал и методы исследования

Исследование проведено на 90 белых беспородных интактных крысах-самцах трех возрастных групп: неполовозрелых (с исходной массой 35-40 г), половозрелых (130-140 г) и периода выраженных старческих изменений (310-320 г). В ходе исследования крысы содержались в стандартных условиях вивария [5] в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей (Страсбург, 1986 г.) [15]. Сроки наблюдения составили 7, 15, 30, 90 и 180 суток. По истечении сроков наблюдения животных декапитировали под эфирным масочным наркозом в соответствии с «Международными рекомендациями по поводу медико-биологических исследований с