

© Попадинець О.Г.

УДК 611.62 + 591.462 + 591.3 + 57.032

СТРУКТУРНО-МЕТАБОЛІЧНІ ПЕРЕТВОРЕННЯ НА ЕТАПАХ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗУ

Попадинець О.Г.

ДВНЗ "Івано-Франківський національний медичний університет", м.Івано-Франківськ

В работе представлены результаты комплексного исследования структурных изменений в стенке мочевого пузыря, а также про- и антиоксидантной систем на этапах постнатального онтогенеза, которое проводилось в эксперименте на 20 неполовозрелых и 20 половозрелых белых беспородных крысах-самцах. Сосудистые преобразования в исследуемые возрастные периоды происходят параллельно с трансформациями клеточных и неклеточных элементов стенки мочевого пузыря, что обеспечивает адекватность тканевого гомеостаза в онтогенезе. Всё это ассоциирует с процессами пероксидации и функционированием антиоксидантных систем, что свидетельствует о их взаимосвязи и взаимообусловленности, а также строгом контроле целой иерархической системой регуляции.

Ключевые слова: мочевой пузырь, постнатальный онтогенез, про- и антиоксидантные системы.

Вступ

Проблема дослідження вікових закономірностей розвитку органів є предметом одного із важливих напрямків сучасної морфології – аукології (вікової антропології) [6]. Перманентність розвитку в онтогенезі зумовлена асинхронністю і гетерохронністю складових органів і тканин організму [5]. Із віком відбувається кількісна і якісна зміна цілісності систем організму в результаті перебудови їх структури і, як наслідок, специфічна реакція організму на зовнішні і внутрішні впливи, а в умовах вікової дезінтеграції центрів регуляції гомеостазу ці зміни можуть стати пусковим механізмом розвитку різноманітних захворювань [4]. Однак, за результатами аналізу світових літературних джерел, дані про постнатальні онтогенетичні перетворення складових стінки сечового міхура мало вивчені, в той час як відомо про високу частоту його уражень у структурі урологічної патології незалежно від віку [1].

Мета дослідження

Виходячи із вище зазначеного, метою нашої роботи було вивчити морфофункціональні особливості сечового міхура у період статевого становлення та статевої зрілості паралельно із дослідженням про- і антиоксидантної систем, оскільки ці процеси взаємопов'язані та взаємообумовлені.

Матеріал та методи дослідження

Для досягнення поставленої мети було використано 20 нестатевозрілих і 20 статевозрілих білих беспородних щурів-самців, масою 120-150 г та 160-180 г відповідно. Всіх тварин утримували в нормальних умовах віварію на повноцінному харчуванні без обмежень у питній воді. Евтаназія тварин – шляхом передозування ефірного наркозу. Застосовано тонку ін'єкцію кровоносних судин паризькою синьою, гістологічні (забарвлення гематоксиліном і еозином, фукселіном за Хартон (виявлення еластичних волокон), трихромне забарвлення за Масоном (ідентифікація колагенових волокон), альціановим синім за Стідме-

ном (виявлення глікозаміногліканів), толуїдиновим синім (візуалізація мастоцитів)); імуногістохімічний (для селективного забарвлення синаптичних структур використані поліклональні антитіла і системи візуалізації Poly Vue Mouse/Rabbit HPR Kit); електронномікроскопічний та біохімічні методи. Стан процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за динамікою накопичення первинних – дієнові кон'югати (ДК) і вторинних ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) (ті, що реагують із тіобарбітуровою кислотою) згідно методики Тимирбулатова Р.А., Селезньова Е.М. (1981). Для визначення стану антиоксидантного захисту (АОЗ) вивчали активність глутатіонпероксидази (ГП), глутатіонредуктази (ГР) кінетичними спектрофотометричними методами. Інтенсивність окиснювальної модифікації білків (ОМБ) визначали за методом Дубиніної Є.Є. і співат. (1995). У результаті окиснення білків можуть утворюватися альдегідні і кетоніві групування амінокислотних залишків, які взаємодіють із 2,4-ДФГ (динітрофенілгідрозон). Оптичну щільність визначали на спектрофотометрі Specord M-40. У залежності від переважання в молекулах білка амінокислот нейтрального (валін, лейцин, ізолейцин і ін.) або основного (лізин, аргінін і ін.) характеру утворюються альдегіддинітрофенілгідрозони або кетондинітрофенілгідрозони нейтрального або основного характеру (АДФГНХ, КДФГНХ та АДФГОХ, КДФГОХ відповідно). Вони мають різні діапазони спектру поглинання. АДФГНХ визначали при довжині хвилі 356 нм, АДФГОХ – 430 нм, КДФГНХ – 370 нм та КДФГОХ – 530 нм. Визначення рівня середньомолекулярних пептидів (СМП) базується на прямій спектрофотометрії депротейнізованого супернатанта крові, отриманого після осадження білків 10% розчином трихлороцтової кислоти. При довжині хвилі 254-258 нм визначається нуклеопротейновий компонент СМП (СМП254), при 278-282 – протеїновий компонент (СМП280). Нуклеопротейновий показник – за рахунок продуктів обміну нуклеопротейнів, протеїновий – продуктів протеолізу білків. Метаболізм колагену оцінюють за вмістом у сироватці крові оксипроліну, який є типовим його біохімічним

маркером. Оксипролін окиснюють хлораміном із наступною конденсацією парадиметиламінобензальдегідом, при цьому утворюється хромоген червоного кольору. Аналіз морфометричних показників проводили за методами непараметричної статистики із використанням коефіцієнта Манна-Уїтні.

Результати дослідження та їх обговорення

Сечовий міхур грушоподібної форми з розширеним краніальним полюсом – верхівкою, видовженим каудально тілом, яке продовжується у дно і вузьку шийку. При ін'єкції кровоносних судин розчином паризької синьої помітне поступлення барвника в основні артерії-джерела кровопостачання сечового міхура (парні краніальні і каудальні міхурові артерії). Їх магістральні гілки добре візуалізуються в стінці органа у прохідному світлі, а поряд швидко ін'єкуються звивисті вени, які супроводжують ці артерії, що може свідчити про функціонування артеріо-венозних анастомозів.

У результаті в адвенції формуються широкопетлисті сітки, а незабаром у м'язовій оболонці спостерігається вже багатокутна об'ємна решітка. У подальшому, при потраплянні ін'єкційної маси у судини слизової оболонки, прослідковуються прилеглі одні до одних кільцеподібні обідки. Таким чином, густа сітка артерій різного діаметру пронизує стінку сечового міхура, розташовуючись у прошарках сполучної тканини. Артерії штопороподібно звивисті, анастомозують між собою, формуючи густі різноформні сплетення. Застосовані ін'єкційні і гістологічні методи дослідження допомогли з'ясувати ангіоархітектоніку та виявити складові судинного русла із наступним їх морфометричним аналізом (табл.1, 2). У нестатевозрілих тварин ланки гемомікроциркуляторного русла вже мають дефінітну будову із характерними типологічними ознаками. Потовщення стінки артерій відбувається за рахунок їх середньої оболонки, ускладнюється структура еластичного каркасу артерій і вен.

*Таблиця 1
Морфометричні параметри кровоносних судин сечового міхура нестатевозрілих щурів у нормі, $M \pm t$*

№ п/п	Калібр судин	Слизова болонка		М'язова болонка		Адвенційна болонка	
		просвіт	товщина стінки	просвіт	товщина стінки	просвіт	товщина стінки
1.	Артерії (80-120 мкм)	98,71±6,91	32,76±0,98	98,92±6,92	32,79±1,31	99,04±4,95	32,81±1,64
2.	Артерії (50-80 мкм)	7 8,36±3,92	21,81±1,53	78,68±5,51	21,92±1,10	79,98±4,79	22,21±1,55
3.	Артеріоли (20-50 мкм)	36,74±2,20	12,25±0,61	36,95±2,59	12,83±0,77	37,21±1,12	13,38±0,80
4.	Прекапіляри (10-20 мкм)	14,82±1,04	6,54±0,26	14,98±1,05	6,61±0,39	15,02±1,05	7,09±0,49
5.	Капіляри (5-10 мкм)	7,03±0,28	1,18±0,08	7,08±0,42	1,21±0,06	7,24±0,51	1,26±0,05
6.	Посткапіляри (15-30 мкм)	18,14±0,91	2,89±0,09	18,27±1,28	2,9±1,17	18,65±1,12	2,95±0,15
7.	Венули (30-60 мкм)	43,04±2,15	4,27±0,17	43,13±1,73	4,33±0,26	43,83±2,19	4,71±0,24
8.	Вени (60-100 мкм)	77,95±5,46	5,1±0,26	78,31±5,48	5,22±0,26	78,42±5,49	6,04±0,18
9.	Вени (100-140 мкм)	120,02±3,60	9,13±0,64	120,21±6,01	9,45±0,47	120,54±6,03	9,63±0,67

*Таблиця 2
Морфометричні параметри кровоносних судин сечового міхура статевозрілих щурів у нормі, $M \pm t$*

№ п/п	Калібр судин	Слизова болонка		М'язова болонка		Адвенційна болонка	
		просвіт	товщина стінки	просвіт	товщина стінки	просвіт	товщина стінки
1.	Артерії (80-120 мкм)	83,36±4,17	30,61±1,53	84,15±3,37	31,06±0,93	83,98±5,88	31,11±1,87
2.	Артерії (50-80 мкм)	76,18±3,81	19,94±1,39	76,83±5,38	20,01±1,20	76,26±4,58	20,21±1,01
3.	Артеріоли (20-50 мкм)	34,27±2,40	9,72±0,39	32,41±2,27	9,12±0,27	33,89±1,69	9,04±0,27
4.	Прекапіляри (10-20 мкм)	14,08±0,99	5,03±0,20	14,13±0,42	5,18±0,26	14,92±1,04	5,49±0,27
5.	Капіляри (5-10 мкм)	6,92±0,21	1,15±0,05	7,06±0,49	1,2±0,04	7,19±0,29	1,27±0,08
6.	Посткапіляри (15-30 мкм)	18,12±1,09	2,86±0,11	18,23±1,28	2,89±0,12	18,61±0,56	2,93±0,18
7.	Венули (30-60 мкм)	42,35±2,96	4,23±0,30	42,44±2,12	4,31±0,17	43,75±2,19	4,69±0,23
8.	Вени (60-100 мкм)	77,49±2,32	5,08±0,20	78,07±2,34	5,14±0,15	78,34±3,92	6,01±0,25
9.	Вени (100-140 мкм)	112,64±5,63	7,57±0,23	111,99±7,84	7,49±0,37	112,73±3,38	7,6±0,30

Слизова оболонка складчаста, за винятком ділянки міхурового трикутника. Добре візуалізуються клітини уротелію (перехідного епітелію), які формують три шари. У базальному шарі вони невеликі, у проміжному – полігональні, а в поверхневому – великі з округлим ядром. Міжклітинні сполучення представлені щільними контактами та десмосомами. У середній оболонці сечового міхура нестатевозрілих тварин збі-

льшується кількість гладких міоцитів паралельно із збільшенням колагенових і еластичних волокон, тому вона вже добре виражена і представлена колагеново-еластичним каркасом із вплетеними трьома шарами гладких міоцитів. У цих клітинах поступово редукуються органели біосинтезу і збільшуються елементи скоротливого апарату, ускладнюються міжклітинні контакти. У зовнішній оболонці багато колагенових во-

локон (рис.1). При забарвленні альціановим синім в основній речовині сполучної тканини ми виявляли глікозаміноглікани. Процеси синтезу і розпаду колагену на етапах постнатального онтогенезу відображається на вмісті в сироватці крові оксипроліну, який у нестатевозрілих щурів становить $(76,2 \pm 1,59)$ мкмоль/л, а у статевозрілих – $(72,8 \pm 2,52)$ мкмоль/л. Важливе значення має структурно-функціональний стан тих клітин сполучної тканини, які синтезують велику кількість біологічно активних речовин, є активними учасниками обмінних, асиміляційних процесів в організмі. Так, за нашими даними, у нестатевозрілих щурів густина мастоцитів на одиницю площі стінки сечового міхура становить $128,49 \pm 29,63$, з яких $32,64 \pm 11,85$ в стані дегрануляції. У статевозрілих тварин ці показники складають $75,97 \pm 16,04$ та $20,92 \pm 6,09$ відповідно. Виявляються вони в усіх оболонках стінки сечового міхура, в основному, поблизу кровоносних судин. Мастоцити є поліморфними. Популяція їх представлена клітинами із різною насиченістю метахроматичними гранулами. Субмікроскопічно структура ядра гомогенна, у цитоплазмі велика кількість гранул різної електронної щільності, у міжгранулярних проміжках помітні мембранні органели, а біля ядра частіше локалізуються мітохондрії. У статевозрілих тварин ускладнюється конфігурація структурних елементів у оболонках стінки сечового міхура (рис.2). За морфометричними даними її товщина у нестатевозрілих тварин становить $(371,39 \pm 14,85)$ мкм, зокрема, оболонки: слизової – $(169,44 \pm 10,17)$ мкм, м'язової – $(184,17 \pm 12,89)$ мкм та адвентиційної – $(17,78 \pm 1,24)$ мкм; у статевозрілих – $(386,18 \pm 23,17)$ мкм, $(179,49 \pm 7,18)$ мкм, $(187,99 \pm 13,16)$ мкм та $(18,70 \pm 1,31)$ мкм відповідно

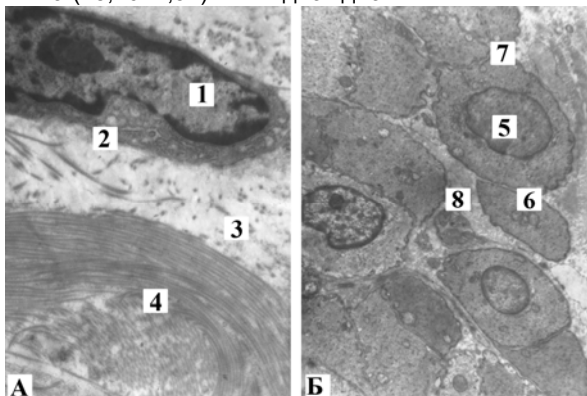


Рис. 1. Субмікроскопічна організація структурних елементів стінки сечового міхура нестатевозрілих щурів. 1 – ядро фібробласта, 2 – каналці і цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки, 3 – основна речовина, 4 – різнонаправлені пучки колагенових волокон, 5 – ядро гладкого міоцита, 6 – мітохондрії, 7 – міо-міоцитарні контакти, 8 – безмієлінове нервовоє волокно. Зб.: А – 8000, Б – 4000.

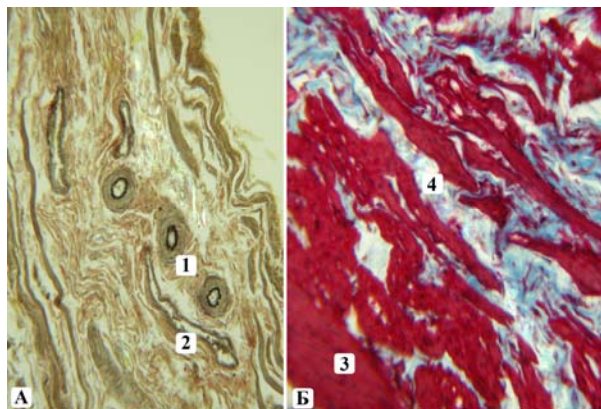


Рис.2. Гістоструктура стінки сечового міхура статевозрілих щурів. 1 – артерія, 2 – вена, 3 – гладкі міоцити, 4 – між'язові сполучнотканинні прошарки. Забарвлення за Харттом (А), за Масоном (Б). Зб.: ок. 10, об. 20 (А), 40 (Б).

Стінка сечового міхура в усіх його анатомічних частинах насичена складовими вегетативних нервових сплетень. При імуногістохімічному виявленні синаптофізінпозитивні терміналі візуалізуються у вигляді округлої форми гранул, ланцюжків у тісному взаємозв'язку із гладкими міоцитами, кровоносними судинами. Площа експресії синаптофізину в 1 мм^2 стінки сечового міхура нестатевозрілих тварин становить $(11421,36 \pm 456,85) \mu\text{m}^2$, у статевозрілих – $(9931,55 \pm 695,10) \mu\text{m}^2$. Ядра нейронів вегетативних сплетень округлої або овальної форми, хроматин розподілений рівномірно; у цитоплазмі перикаріона знаходяться мембранні та немембранні органели. Виявляли ми також і недиференційовані нервові клітини із великим ядром (частіше у нестатевозрілих тварин) та клітини глії. В аксоплазмі візуалізуються мітохондрії, нейрофібрили і нейральні мікротрубочки. У стінці сечового міхура статевозрілих щурів частіше стають помітні мієлінові волокна із притаманними їм структурними елементами, що узгоджується із концепцією про особливості онтогенетичних перетворень мієлінових волокон вісцеральних нервів [7, 8]. Підтверджується також і стимулюючий вплив аферентної іннервації, завдяки чому забезпечуються процеси росту і розвитку, у відповідності із функціональними потребами [2].

Вище зазначені структурні перетворення в стінці сечового міхура супроводжуються біохімічними реакціями – перекисним окисненням ліпідів, яке є нормальним фізіологічним процесом і здійснюється під контролем ферментів антиоксидантної системи [3]. Так, ми виявили, що у нестатевозрілих щурів рівень ГП та МДА є в 1,3 рази вищий, ніж у статевозрілих. Це ми пояснюємо активністю метаболічних процесів у даній віковій групі, що пов'язано зі становленням морфофункціональних особливостей органів та систем (табл.3).

Таблиця 3

Показники системи ПОЛ-АОЗ, ОМБ, СМП у тварин нестатевозрілого (А) та статевозрілого (Б) віку в нормі, $M \pm t$

	ГП ммоль/х в/мг	ГР нмоль/ хв/мг	ТБК-АП нмоль/л	ДК нмоль/л	АДФГНХ од/мл	КДФГНХ од/мл	АДФГОХ од/мл	КДФГОХ од/мл	СМП ₂₅₄ ум. од.	СМП ₂₈₀ ум. од.
А	0,24 ±0,01	0,34 ±0,01	3,806 ±0,009	0,804 ±0,001	1,776 ±0,001	1,886 ±0,001	0,781 ±0,001	0,192 ±0,001	0,242 ±0,001	0,270 ±0,001
Б	0,18 ±0,01	0,44 ±0,01	5,130 ±0,007	0,603 ±0,001	2,992 ±0,001	2,926 ±0,001	0,968 ±0,001	0,204 ±0,001	0,304 ±0,001	0,311 ±0,001

Висновки

Судинне русло зазнає змін у зв'язку із віковою перебудовою та зміною потреби в кровопостачанні і трансформується разом із становленням і ростом оболонок стінки сечового міхура. Аналізуючи про- і антиоксидантний захист у щурів цих двох вікових груп, ми відмітили, що на кожному із досліджених етапів розвитку є свій фоновий рівень їх показників. Встановлено, що процеси пероксидації ліпідів та білків і антиоксидантний захист формують цілісну систему, яка, перебуваючи в стані динамічної рівноваги, забезпечує адекватність метаболічних реакцій морфофункціональним запитам на кожному із етапів розвитку.

**Перспективи подальших розробок
у даному напрямку**

Враховуючи особливості становлення структурних елементів стінки сечового міхура на даних етапах постнатального онтогенезу, перспективним є з'ясування їх динаміки в інших вікових групах та в умовах впливу різноманітних факторів.

Література

1. Возіанов О.Ф. Урологія / О.Ф.Возіанов, О.В.Люлько. – Дніпропетровськ: РВА «Дніпро-VAL», 2002. – 830 с.

2. Вороб'єва О.Б. Влияние химической деафферентации на нейроны интрамуральных ганглиев двенадцатиперстной кишки в постнатальном онтогенезе белой крысы / О.Б. Вороб'єва // Морфология. – 2006. – Т. 130, №5. – С. 33.

3. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток / Е.Е.Дубинина. – Санкт-Петербург: «Мед. Пресса», 2006. – 397 с.

4. Макарова Т.М. Девастиационное влияние функционального запроса в определенные фазы циклов изменчивости органов / Т.М. Макарова, О.В. Рагозина, В.С. Мальцева // Морфология. – 2010. – Т. 137, №4. – С. 119.

5. О законах индивидуального развития человека и животных / Л.П. Тельцов, И.Р. Шашанов, В.А. Здравовинин // Морфология. – 2006. – Т. 129, №4. – С. 122.

6. Ольховський В.О. Вікові особливості зовнішньої будови нервів шлунка людини / В.О. Ольховський // Вісник морфології. – 2003. – №1. – С. 1 – 3.

7. Ольховський В.О. Закономірності макромікроскопічної та мікроскопічної організації нервово-судинних структур шлунка людини / В.О. Ольховський // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2004. – №2. – С. 65.

8. Становлення структурної організації нервів внутрішніх органів у постнатальному онтогенезі людини / С.М. Калашнікова, В.М. Лупир, В.В. Бобін [та ін.] // Вісник проблем біології і медицини. – 2006. – Вип.2. – С.214-215.

Summary

STRUCTURAL AND METABOLIC TRANSFORMATIONS AT POSTNATAL ONTOGENESIS STAGES

O.G. Popadynets

Key words: urinary bladder, postnatal ontogenesis, pro- and antioxidant systems.

The paper presents the results of complex study of the urinary bladder wall structural transformations and pro- and antioxidant systems at postnatal ontogenesis which was performed in the experiment at 20 immature and 20 mature white outbred male rats. Vascular transformations during the studied age periods take place in parallel with transformations of cellular and non-cellular elements of the urinary bladder wall which provides the adequacy of tissue homeostasis in ontogenesis. The above-stated associates with peroxidation processes and functioning of antioxidant systems which in its turn testifies of their interconnection and interconditionality, as well as of strict control of the whole hierarchic regulatory system.

Higher State Educational Establishment "Ivano-Frankivsk national medical university", Ivano-Frankivsk

Матеріал надійшов до редакції 11.05.2012 р.