

## УЛЬТРАСТРУКТУРНІ ЗМІНИ НЕЙРОНІВ ФРОНТАЛЬНОЇ КОРИ ЩУРА ПІД ВПЛИВОМ ІНТОКСИКАЦІЇ МЕТИЛТРЕТБУТИЛОВИМ ЕФІРОМ

Надійшла 10.12.10

Досліджували ультраструктурні зміни в нейронах кори фронтальної частки великих півкуль щура, індуковані хронічною інтоксикацією тварин метилтретбутиловим ефіром (МТБЕ; щоденні дози внутрішньошлункового введення в експериментальних групах 0.5, 5, 50 або 500 мг/кг). Протягом 60 діб експерименту тварини не втрачали життєздатності під дією МТБЕ у найвищих дозах, але при цьому в кортикальних нейронах розвивались істотні негативні структурні зміни. У значній частині мітохондрій спостерігалися набряк, зменшення кількості крист, деструкція зовнішньої мембрани і, кінець кінцем, перетворення на вакуолі. Ендоплазматичний ретикулум зазнавав співставних модифікацій (дилатації та деструкції цистерн та інтенсивної вакуолізації). Підвищувалась осміофілія ядер нейронів, вони також деформувалися, порушувалася цілісність ядерної оболонки. Інші клітинні органели також зазнавали просторового перерозподілу та деструкції. Всі ці зміни призводили до загибелі значної частини нейронів кори через інтенсивний апоптоз та наступного фагоцитовування апоптотичних тіл мікрогліоцитами. Зазначені зміни проградієнтно наростали в перебігу експерименту (до 60 діб). Їх характер був найдраматичнішим при найвищих використаних дозах МТБЕ (500 мг/кг), але відповідні прояви були очевидними (хоча й слабкими) навіть при низьких дозах (0.5 та 5 мг/кг). Характерними властивостями ультраструктурних модифікацій у фронтальній корі під впливом МТБЕ в усіх використаних дозах були поліморфізм та варіативність. Отже МТБЕ – агент, котрий широко застосовується в промисловості і транспорті та, як вважають, демонструє порівняно низьку інтегральну токсичність, – справляє потужну негативну нейротропну дію на нейронні системи кори великих півкуль, різко інтенсифікуючи процеси апоптозу в цих структурах.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** фронтальна частка кори великих півкуль, метилтретбутиловий ефір, ультраструктурні модифікації, апоптоз.

### ВСТУП

Високий рівень забруднення довкілля в Україні є потужним чинником негативного впливу на здоров'я населення. Одним з основних забруднювачів довкілля в глобальному масштабі в теперішній час став метилтретбутиловий ефір (МТБЕ) – речовина, яка знайшла широке використання в багатьох галузях промисловості та транспорту. Він інтенсивно застосовується в синтезі поліетилену, поліпропілену, полівінілхлориду тощо, але найбільшо-

го поширення (після відмови від тетраетилсвинцю) ця речовина набула як антидетонаційна добавка до бензину, що істотно підвищує октанове число останнього [1–3]. Отже, МТБЕ може безпосередньо впливати на досить широкі категорії населення (водіїв, працівників хімічних підприємств та пунктів заправки, ремонтників тощо). Показано, крім того, що частина МТБЕ не згоряє в двигунах автомобілів у перебігу їх роботи і потрапляє в повітря в незміненому стані. Внаслідок цього можуть забруднюватись як атмосферне повітря, так і (опосередковано) продукти харчування, вода поверхневих джерел та підземні води, що використовуються для водопостачання та господарсько-побутових потреб населення [1, 2].

МТБЕ за нормативною класифікацією був віднесений до агентів з відносно невисокою токсич-

<sup>1</sup> Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця МОЗ України, Київ (Україна).

<sup>2</sup> Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ (Україна).  
Ел. пошта: andrii\_parakhin@ukr.net (В. Г. Черкасов, А. А. Парахін);  
neu\_nei@yahoo.com (Д. А. Василенко).

ністю і, відповідно, помірним негативним впливом на здоров'я населення. Проте цей висновок у міру того, як біологічні ефекти даної сполуки почали піддаватися поглибленим дослідженням, став викликати істотні сумніви [1–3].

У нашій роботі ми вивчали ультраструктурні зміни в нервових клітинах фронтальної частки кори великих півкуль мозку щура, що розвиваються в умовах хронічної інтоксикації МТБЕ.

## МЕТОДИКА

Дослідження було проведено на 90 статевозрілих білих щурах-самцях, які були поділені на п'ять груп по 18 тварин у кожній. Щурам II–V груп щоденно вводили внутрішньошлунково за допомогою зонда МТБЕ в олійному розчині в дозах 0,5, 5, 50 та 500 мг/кг маси тіла відповідно. Група I була контрольною, і щурам, що входили до неї, вводили тільки олію. Ми використовували внутрішньошлункове (а не інгаляційне, як у більшості досліджень) уведення тестованого агента, оскільки це дозволяло точніше контролювати потрапляння МТБЕ до організму. Згідно з існуючими нормативними даними [1–3], найвища щоденна доза МТБЕ, використана в наших дослідах, складає приблизно 10 % разової напівлетальної дози ( $LD_{50}$ ).

Утримання тварин та маніпуляції з ними проводили у відповідності до положень «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001), та положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1985).

Забір матеріалу здійснювався під ефірним наркозом через одну, три, вісім, 15, 22 та 60 діб після початку введення МТБЕ (по три щури з кожної групи). Після декапітації та розтину черепа швидко вирізали за допомогою леза невеликі шматочки сірої речовини фронтальних часток кори великих півкуль. Матеріал для електронномікроскопічних досліджень фіксували за загальноприйнятою методикою, після чого зневоднювали в етанолі зростаючих концентрацій та абсолютному ацетоні (з попередньою додатковою фіксацією) і контрастували в насиченому розчині уранілацетату.

Ультратонкі зрізи вивчали під електронним мікроскопом при збільшеннях на екрані від 2000 до 124000. Дослідження виконувалося на базі відді-

лу електронної мікроскопії (науковий керівник – проф. Л. О. Стеченко) Інституту проблем патології Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця МОЗ України.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При викладенні результатів нашого дослідження ми, насамперед, повинні констатувати, що досить тривала (протягом двох місяців) інтоксикація піддослідних щурів МТБЕ, навіть за найвищих використаних доз цього агента, не призводила до загибелі тварин. У V групі, щури якої щоденно отримували 500 мг/кг МТБЕ, летальність також була нульовою, і всі тварини виводились із експерименту (навіть на 60-й день останнього), будучи живими. Зовнішні та поведінкові прояви інтоксикації МТБЕ в II та III групах (щоденні дози МТБЕ 0,5 та 5,0 мг/кг відповідно) були мінімальними, а в IV та V групах – досить помірними. Серед таких проявів можна відзначити загальну в'ялість, зниження апетиту, зменшення частоти та інтенсивності актів грумінгу, погіршення стану шерсті. Розлади постуральних реакцій та локомоції у таких щурів були помірними, і ці тварини продовжували самостійно харчуватись і споживати воду.

У нормі (у тварин контрольної групи) ядра нервових клітин в умовах наших експериментів мали світлу каріоплазму, рівні контури, рівномірну (без дилатацій) ядерну оболонку та відносно нечисленні ядерні пори. Полісоми були розподілені по всій цитоплазмі; їх кількість трохи збільшувалась у ділянці скупчення цистерн гранулярного ендоплазматичного ретикулула (ЕР). Агранулярний ЕР був представлений щільно упакованими, злегка розширеними цистернами з численними пухирцями; дана частка ЕР у плані зрізу утворювала невеликі скупчення (звичайно два-три). Крім цього, у сомах нейронів спостерігалися відносно нечисленні мітохондрії із щільно упакованими кристами, поодинокі лізосоми і темні осміофільні тіла. В умовах норми привертає увагу загалом низький ступінь електронної щільності ядра та соматичної цитоплазми. Це зумовлює їх світлий фон, на якому чітко виявляються інші органели. Дендрити містилися в собі ті ж самі ультраструктурні утворення, що й соми нервових клітин, але в менших кількостях. Для ультраструктури дендритів була типовою наявність мікротрубочок, кількість яких у великих дендритах виявилася досить значною; вона поступово

зменшувалась у міру того, як відбувалися розгалуження та потоншення дендритів. Крім мікротрубочок, у дендритах зустрічалися нейрофіламенти, цистерни гранулярного і (рідше) агранулярного ER, мітохондрії, невеликі вакуолі, лізосоми. Характерною відмінністю дендритів від аксонів була наявність у перших шипиків із шиповим апаратом та зон постсинаптичної спеціалізації.

Аксони відносно великого діаметра мали мієлінові оболонки. Більшість синаптичних контактів у корі фронтальної частки великого мозку розташовувались у нейропілі; ці контакти звичайно утворювалися найтоншими гілочками аксонів і дендритів. Синапси характеризувалися наявністю в пресинаптичному відростку синаптичних пухирців, підвищеною електронощільністю пресинаптичної і постсинаптичної мембран та чітко видимими синаптичними щілинами, що відокремлювали пресинаптичні відростки від постсинаптичних. Синаптичні пухирці нерівномірно розподілялися в цитоплазмі пресинаптичної терминалі і виявляли тенденцію до накопичення біля пресинаптичної мембрани. Синаптичні пухирці були більш-менш ізоморфними за величиною та електроною щільністю.

Нейропіль фронтальної частки кори був представлений переплетенням аксонів, дендритів і відростків гліальних клітин, серед яких найбільш виразно виділялися великі світлі дендрити і мієлінізовані волокна. Відростки гліальних клітин займали порівняно невелику частину нейропіля.

Результати електронномікроскопічного дослідження фронтальних ділянок кори великих півкуль щурів експериментальних груп II–V, підданих дії МТБЕ, показали, що кортикальні нейрони та гліальні клітини зазнають у цих умовах істотних ультраструктурних змін. Дані зміни значною мірою залежали від дози МТБЕ та терміну забору матеріалу і при цьому відзначалися великим поліморфізмом. Зазначені структурні модифікації були найбільш виразними, часом досягаючи катастрофічної інтенсивності у тварин IV та, особливо, V експериментальних груп. Проте прояви таких модифікацій могли спостерігатися в окремих нейронах навіть у II групі, у щурів, котрі отримували МТБЕ у найменших щоденних дозах (0.5 мг/кг, тобто таких, котрі були на чотири порядки нижчими за  $LD_{50}$  [2]). Яскравим свідченням поліморфізму спостережуваних змін був наступний факт. В умовах тривалої дії МТБЕ у найвищих використаних дозах (50 та 500 мг/кг), коли патологічні зміни були очевидними у більшості досліджених нейронів кори (рис. 1–4),

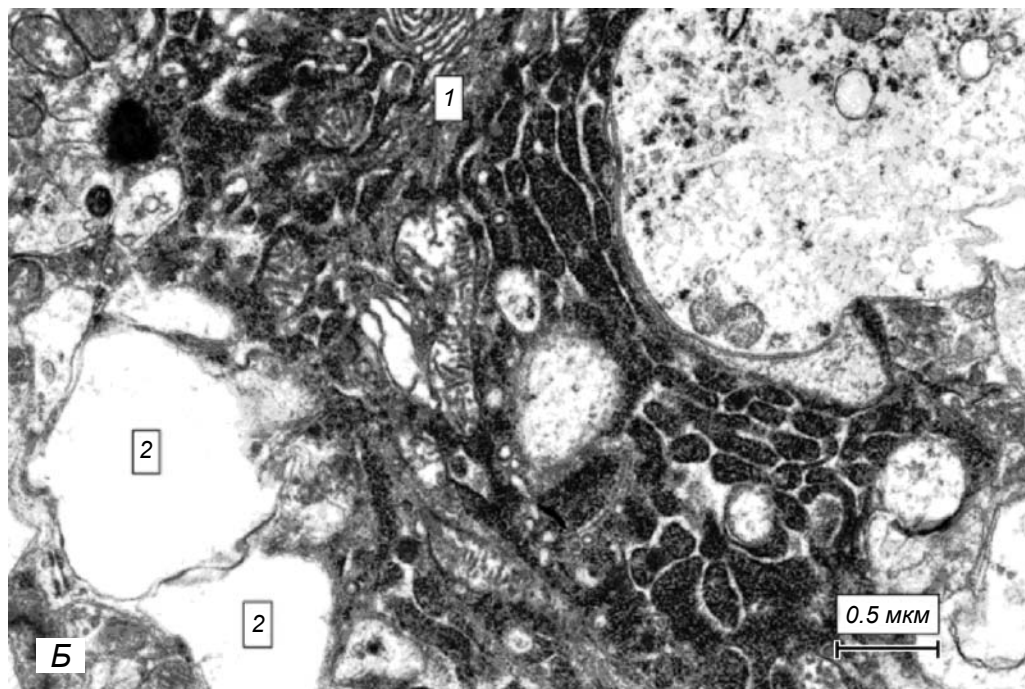
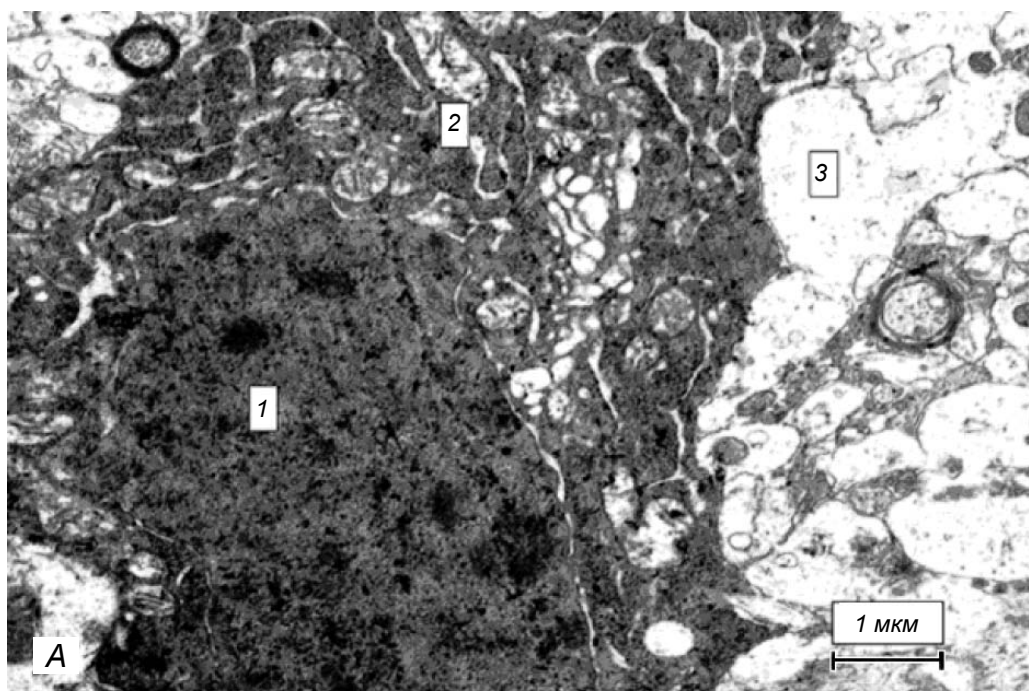
клітини з драматичним рівнем таких змін могли бути сусідніми з нейронами, ультраструктурні характеристики яких майже не зазнавали негативних модифікацій (рис. 3, Б). З урахуванням наведеного вище ми надалі основну увагу в описі експериментальних результатів приділяємо даним, отриманим на щурах IV та V груп, тобто тваринах, підданих дії МТБЕ у найвищих використаних дозах. Очевидно, що ультраструктурні модифікації кортикальних нейронів у таких тварин були найбільш виразними.

Одним із основних проявів дії МТБЕ у багатьох клітинах щурів згаданих груп було інтенсивне набухання мітохондрій з руйнуванням крист та внутрішніх мембран. У деяких мітохондрій внутрішня мембрана не виявлялася взагалі, і органела перетворювалася на вакуоль. Проте за величиною такі вакуолі були більшими, ніж первинні вакуолі, а залишки крист або внутрішньої мембрани давали можливість ідентифікувати їх як такі, що походять з мітохондрій. У щурів V групи нейрони фронтальної кори з тими або іншими проявами патологічних змін у мітохондріях склали на пізніх етапах експериментів (22–60-та доби) переважну більшість досліджених кортикальних одиниць.

Поодинокі мітохондрії зі співставними змінами могли зустрічатися і в нейронах і контрольних тварин, і щурів, підданих дії МТБЕ у найменших дозах. Однак розширення цистерн гранулярного та агранулярного ER, поява дрібних вакуолей і пухирців, вкритих додатковою оболонкою, виразне зменшення кількості рибосом і полісом, розміщення полісом групами, деяке збільшення кількості мікротрубочок в цитоплазмі кортикальних нейронів тварин, підданих дії МТБЕ навіть у найменшій із використаних доз, вказували на розвиток у таких клітинах патологічного процесу під дією даного агента.

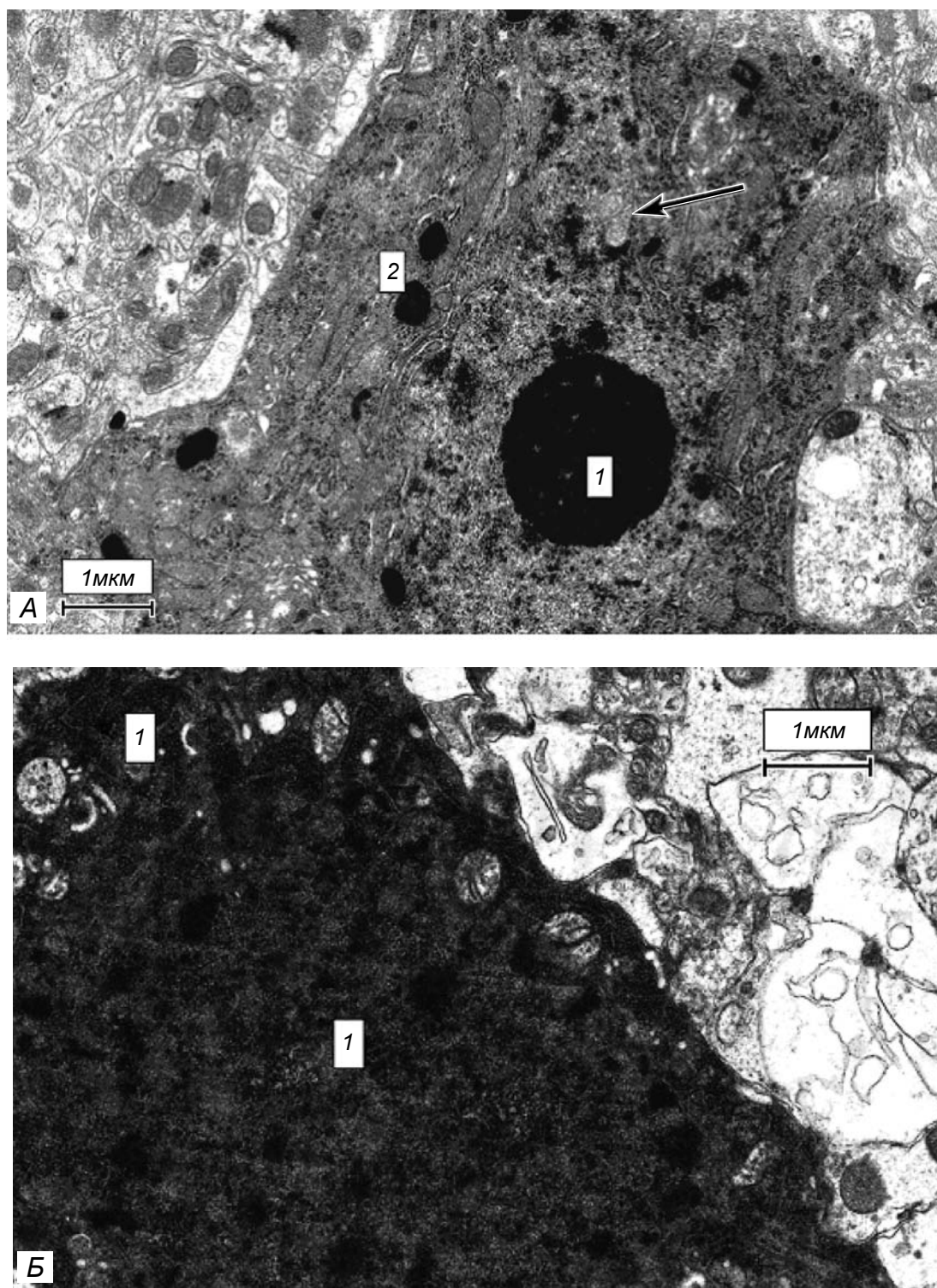
На ранніх термінах (через одну або три доби експерименту) у тварин IV та V груп у мітохондріях нервових клітин спостерігалися лише фрагментація та деструкція крист; при цьому ступінь пошкодження мітохондрій варіював не тільки в різних клітинах, але й у межах однієї клітини.

Розпад крист і набухання мітохондрій у тварин IV та, особливо, V експериментальних груп поєднувалися з інтенсивним підвищенням осміофільності цитоплазми, кластеризацією рибосом і полісом, які утворювали групи різного розміру. На електронограмах (рис. 1, А) поряд із позбавленими крист мітохондріями можна було також бачити численні дрібні вакуолі, скупчення лізосом, розширення цистерн ER, перерозподіл полісом та інші зміни.



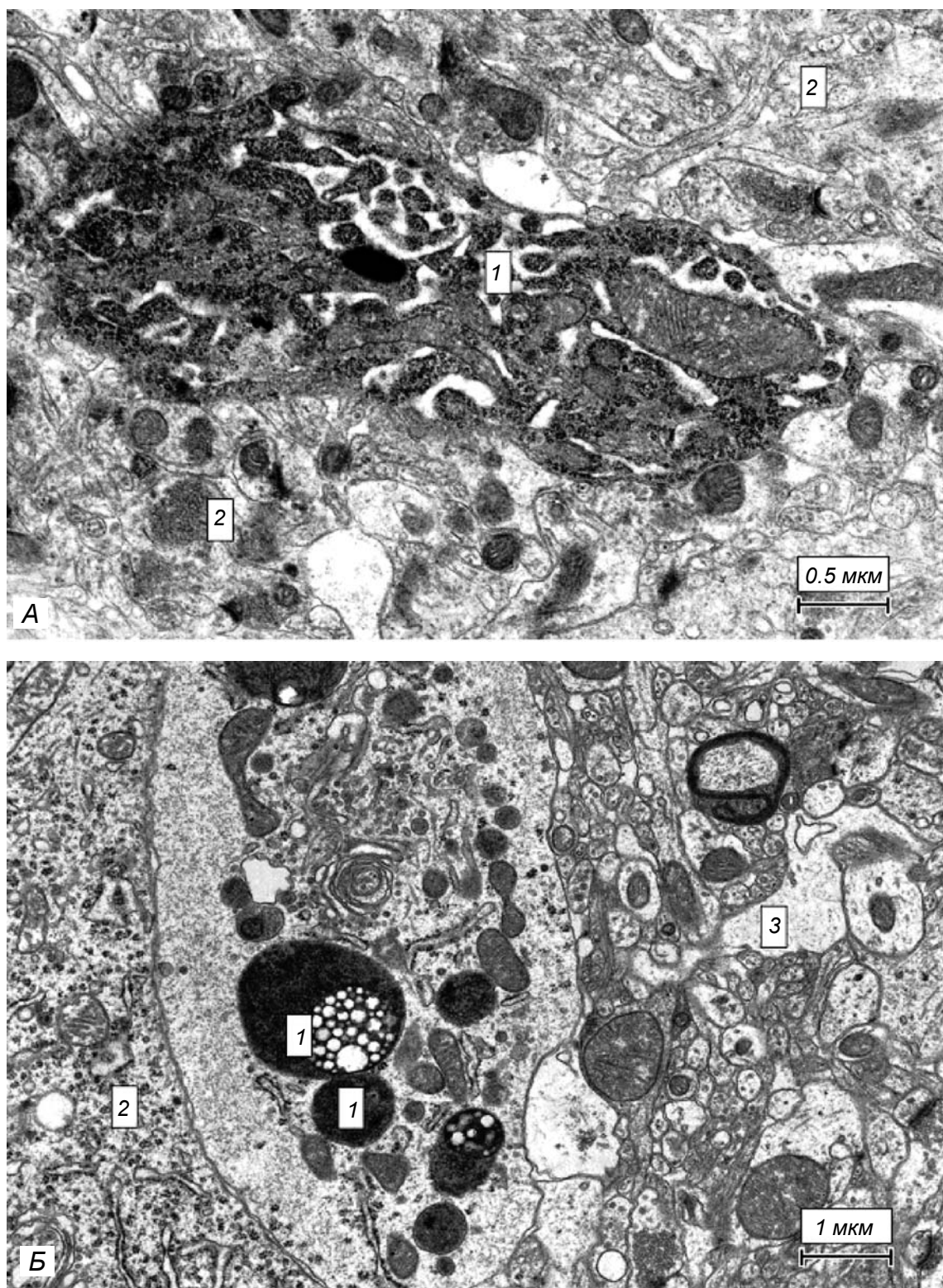
**Р и с. 1.** Патологічні зміни в нейронах фронтальної частки кори великих півкуль щурів V експериментальної групи (підданих дії метилтретбутилового ефіру в щоденних дозах 500 мг/кг маси тіла).

*А* – через вісім днів експерименту (набряк мітохондрій та розклад крист у них; порушення впорядкованості та вакуолізація цистерн гранулярного та агранулярного ендоплазматичного ретикулула, осміофілізація ядра та цитоплазми). *1* – ядро нейрона, *2* – цитоплазма, *3* – відросток сусіднього астроцита. *Б* – через 22 доби експерименту (деформація, фрагментація та осміофілізація цитоплазми – *1*). *2* – відростки астроцита (астроцитів).



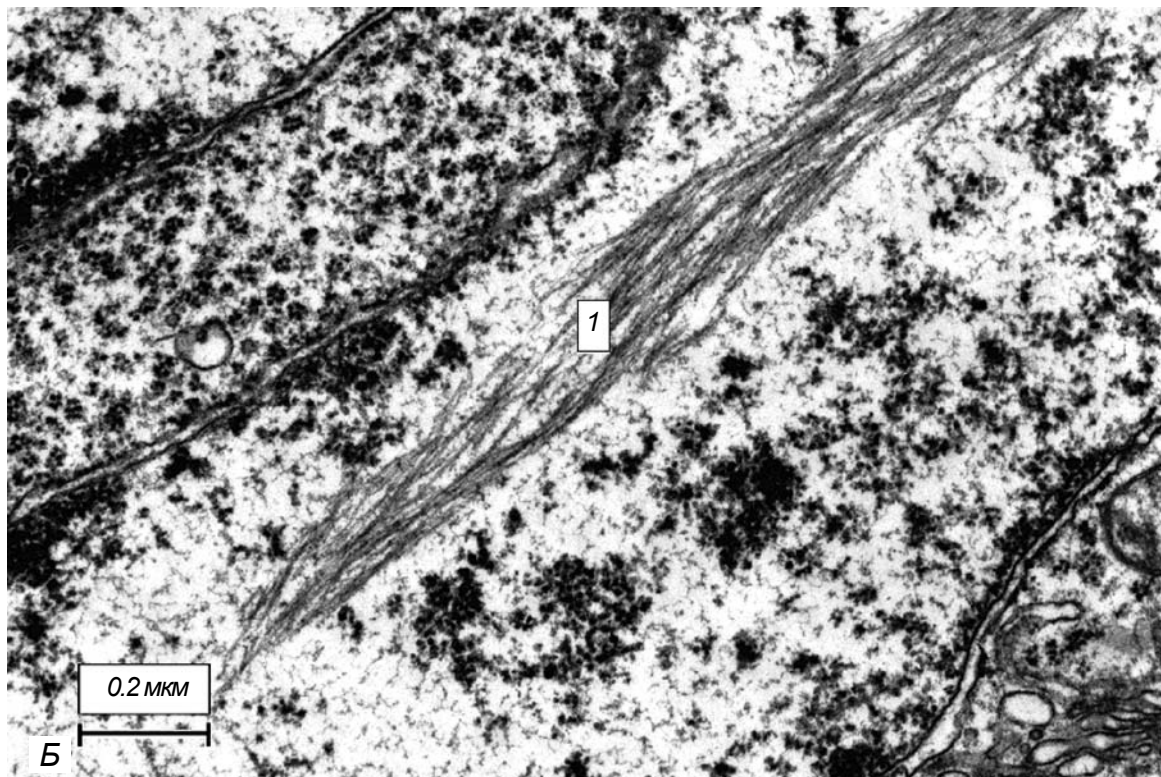
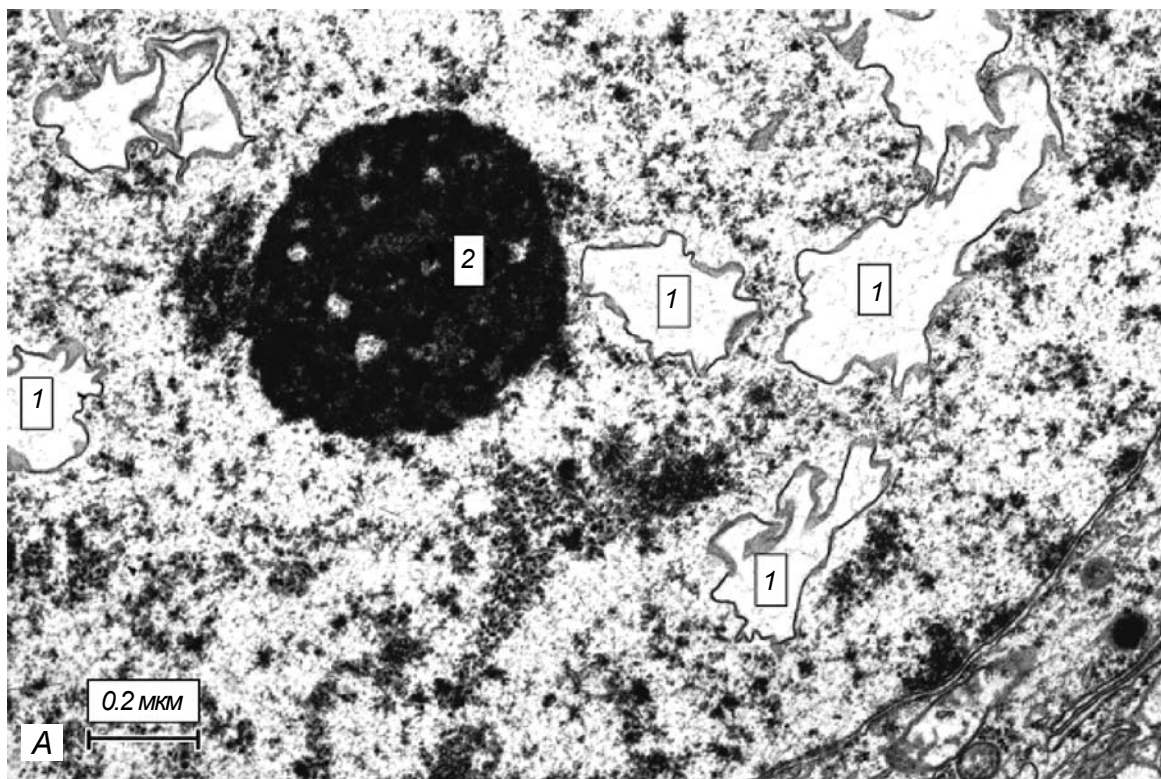
**Р и с. 2.** Деструктивні зміни в ядрах нейронів фронтальної частки кори щурів V експериментальної групи та інтенсивні прояви апоптозу.

*А* – через 22 доби експерименту (руйнація ядерної оболонки і поява лізосом у перинуклеарній зоні цитоплазми). Стрілкою відмічена наявність залишків мітохондрій у межах каріоплазми. *1* – ядерце, *2* – лізосоми. *Б* – через 60 діб експерименту (повне зникнення ядерної оболонки і неможливість визначити межі ядра як такого; різка осміофілізація залишків нервової клітини). *1* – деградовані мітохондрії.



**Р и с. 3.** Явища апоптозу в нейронах фронтальної частки кори шурів V експериментальної групи через 60 (А) та 22 (Б) доби експерименту.

На А: 1 – апоптотичне тіло, 2 — нейропіл; на Б: 1 – залишки апоптотичних тіл у цитоплазмі мікроглію, 2 – цитоплазма сусіднього нейрона, що не зазнав виразних апоптотичних змін; 3 – нейропіл.



**Р и с. 4.** Ядра нейронів фронтальної кори щура V групи, що зазнали інтенсивних апоптозних змін через 60 діб експерименту. На *A*: 1 – вакуолі в межах ядра, 2 – ядрце. На *Б* – пучок мікрофіламентів (1) у межах ядра.

У матриксі деяких мітохондрій відзначалося накопичення осміофільного матеріалу або дрібних електроннощільних гранул, що також вказувало на важкий ступінь пошкодження цих органел.

Оцінюючи стан мітохондрій, очевидно, треба виділити морфологічні ознаки необоротності їх змін (в основному у тварин IV та V груп). Перш за все, до таких ознак можна віднести руйнування обмежувачих мітохондрій мембран, що призводило до розпаду цих органел. Ознакою необоротних змін мітохондрій були також поява в їх матриксі мембранних включень, виразно видимих на електроннопрозорому тлі, та різке зменшення кількості крист у даних органелах.

Отже, деструктивні зміни мітохондрій нервових клітин істотно залежали від дози МТБЕ. У тварин IV та V груп такі модифікації мітохондрій, як набування, вогнищеві зміни в них зі збереженням частини крист і мембран, що обмежують органелу, або навіть цілковита руйнація (на пізніх етапах дослідження) набували драматичного характеру.

Слід відмітити, що поруч з мітохондріями, зазнавши деструкції, зустрічалися (особливо у тварин II–IV груп) невеликі групи дрібних мітохондрій зі збереженою структурою. Дрібні, округлі мітохондрії зі збільшеною кількістю крист зазвичай розглядають як новоутворені [4].

Зміни гранулярного ЕР у нервових клітинах також залежали від дози МТБЕ і часу після початку експерименту. У тварин III–V груп кількість цистерн гранулярного ЕР помітно зменшувалась, у місцях їх скупчень орієнтація цистерн втрачала упорядкованість, і вони вже не утворювали злагоджених паралельних рядів. У тварин III та IV експериментальних груп цистерни гранулярного ЕР фрагментувалися, перетворюючись в округлі або неправильної форми утворення, що нагадували вакуолі. Кількість рибосом, прикріплених до стінок змінених цистерн гранулярного ЕР, зменшувалась. Одночасно була зменшеною і кількість полісом у цитоплазмі; при цьому спостерігався їх перерозподіл. Дані органели утворювали більші (порівняно з нормою) групи; скупчення полісом у цитоплазмі чергувалися з вогнищами просвітління, практично їх позбавленими. Частіше скупчення полісом спостерігалися поблизу ядра. У таких нервових клітинах були очевидними зміни структури ядра, контури якого ставали нерівними. Розміри ядерця були збільшеними, перинуклеарні цистерни утворювали осередкові розширення і звуження. Кількість ядерних пір порівняно з нормою збільшувалась; час-

тіше, ніж у нормі, спостерігався контакт цистерн гранулярного ЕР з ядерною мембраною.

Ще більш виразні зміни гранулярного ЕР відбувались у тварин V експериментальної групи. Вони проявлялись як порушення впорядкованості цистерн, їх фрагментація, вогнищеве розширення цистерн або перетворення їх у вакуолеподібні утворення, зменшення кількості рибосом (рис. 1, А). Порівняно рідше спостерігався розпад елементів гранулярного ЕР з утворенням великих вакуолей, мієліноподібних тіл, «зяброподібних» тілець і т. д. Кінцевою стадією були повний розпад цистерн гранулярного ЕР і зникнення не тільки скупчень таких цистерн, але й окремих їх елементів. Загальновідомо, що зміни гранулярного ЕР взаємопов'язані зі змінами інших структур білоксинтезуючого апарату клітини – ядра, ядерця, полісом та агранулярного ЕР.

Вакуолі, що походили з елементів гранулярного ЕР, звичайно мали неправильну форму. Великі та численні вакуолі нерідко перетворювалися в порожнини з нерівним краями, але до оточуючих їх мембран ще могли бути прикріплені поодинокі рибосоми. Перетворення цистерн гранулярного ЕР у вакуолі є перехідним станом до остаточного розпаду даної структури; цей феномен зустрічався найчастіше в гіперхромних, зморщених клітинах, що зазнавали апоптозних змін.

У випадках, коли нейрон кори вмщував багато вакуолей, його цитоплазма при відносно малих збільшеннях електронного мікроскопа або при світлооптичному дослідженні напівтонких (0.5–1 мкм) зрізів виглядала часом стільникоподібною (рис. 1, Б). Незважаючи на те, що осміофілія цитоплазми була чітко збільшеною, велика кількість світлих вакуолей, «стискаючи» цитоплазму до вузьких перекидин і містків між прозорими вакуолями, зумовлювала створення загального відносно просвітленого фону порівняно з гомогенним темним різко осміофільним ядром. Останнє зазвичай набувало на цій стадії процесу багатокутної, трикутної або неправильної багатолопатевої форми. Загалом, подібна картина однозначно трактується як характерний морфологічний прояв апоптозу [4–7]. Її часто кваліфікують як «закипання» цитоплазми, так званий процес блебінга (від англ. «bleb» – пухир) [5].

У деяких нервових клітинах фронтальної кори великих півкуль щурів V експериментальної групи (найвища доза МТБЕ, 500 мг/кг) численні вакуолі і цистерни в цитоплазмі зумовлювали істотну деформацію осміофільного ядра. Периферійні відділи зморщеної і деформованої цитоплазми нервових

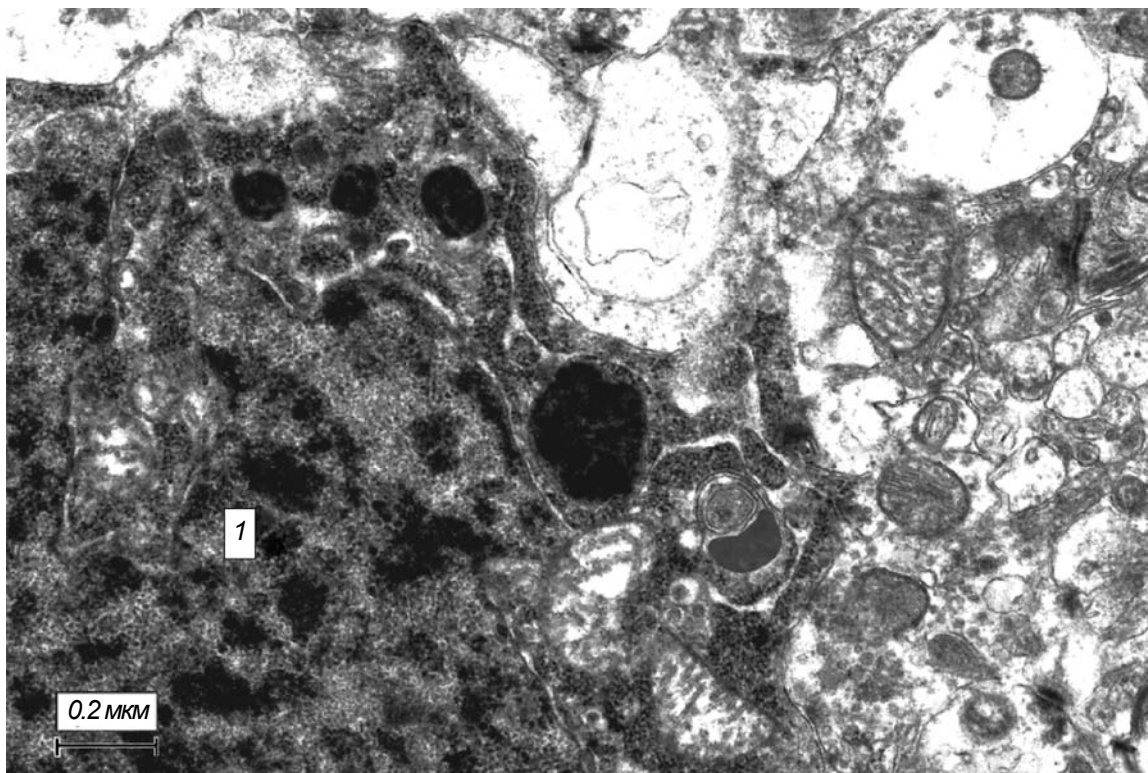


клітин фрагментувалися та утворювали апоптотичні тільця, чому сприяло занурення в них відростків астроцитів (рис. 1, *Б*). Іноді процес блеббінга в нервових клітинах не був дуже виразним, видима структура ядерного хроматину майже не змінювалась, однак ядерна оболонка практично зникла, а в перинуклеарній зоні виявлялися лізосоми (рис. 2, *А*). В інших випадках каріоплазма повністю змішувалася з матриксом цитоплазми, який ставав гіперосміофільним (нагадував «чорнильну пляму»). На тлі такої «клітини-плями» можна було розрізнити лише окремі деградовані мітохондрії (рис. 2, *Б*).

Фінальна стадія МТБЕ-індукованого апоптозу кортикальних нервових клітин характеризувалася розпадом клітини на оточені мембраною щільні фрагменти – апоптотичні тіла сферичної або овоїдної форми (рис. 3, *А*), які фагоцитувалися мікрогліоцитами (*Б*). Особливо слід підкреслити, що виникнення дефектів ядерної оболонки супроводжувалося появою в каріоплазмі, тобто в межах ядра

нервових клітин як такого, вакуолей (рис. 4, *А*) та пучків мікрофіламентів (*Б*).

Як вже вказувалося, всі вищенаведені дані стосувалися тварин, підданих тривалій дії МТБЕ у відносно високих дозах. Проте цілком співставні патологічні ультраструктурні зміни в нейронах фронтальної кори можна було виявити на пізніх стадіях експерименту і у щурів III і навіть II експериментальних груп (рис. 5). Ефекти введення МТБЕ у цих випадках відрізнялися в основному тим, що вони виникали в значно меншій частині досліджених нейронів кори, а інтенсивність патологічних структурних змін зазвичай була помірнішою. Отже, негативний вплив інтоксикації МТБЕ на ультраструктурні характеристики нейронів неокортексту при щоденних дозах МТБЕ, на три або навіть чотири порядки менших за  $LD_{50}$ , хоча і був відносно помірним, але відрізнявся від дії агента в дозах, на один-два порядки вищих, в основному кількісно, але не якісно.



**Р и с. 5.** Апоптотичні зміни в нейроні фронтальної кори великих півкуль щура III експериментальної групи (щоденна доза МТБЕ 5 мг/кг маси тіла) через 60 діб експерименту.

*1* – ядро нервової клітини.

Таким чином, наші дані свідчать про те, що проградієнтне наростання негативних ультраструктурних змін нервових клітин кори під дією МТБЕ супроводжується появою великих вакуолей, більш грубою деструкцією мітохондрій і, нарешті, утворенням у цитоплазмі аномальних мембранних комплексів та/або мієліноподібних тіл. Поява в цитоплазмі великих вакуолей або мембранних включень є ознакою вираженої деструкції клітини, патологічної перебудови всієї її ультраструктури. Утворення великих вакуолей в цитоплазмі є очевидним результатом згасання репаративних можливостей клітини і початком її загибелі.

Більшість вакуолей в нервових клітинах кори в умовах наших експериментів розвивалася з елементів гранулярного ЕР і мітохондрій. Вакуолі, утворені з елементів ЕР, досягали іноді досить великих розмірів порівняно з вихідними розмірами цистерн даної органели. Набрякання мітохондрій також може бути перехідною стадією або до утворення вакуолей з цих органел, або до їх фрагментації.

Отримані дані про вплив МТБЕ на нейрони фронтальної частки кори великих півкуль щура свідчать про характерну і досить інтенсивну дію цього агента на внутрішньоклітинні мембрани вказаних клітин. Комплекс внутрішньоклітинних мембран у теперішній час розглядається як єдина інтегральна система [8]. До її складу входять мембрани гранулярного і агранулярного ЕР та мітохондрій. Ця система сполучена анастомозами з перинуклеарною цистерною і плазматичною мембраною, що оточує клітину. Така система цитомембран відповідальна за реалізацію низки життєво важливих функцій клітини – трофічної, структуроутворюючої, видільної та ін.

Тому в світлі отриманих даних вакуолізація кортикальних нейронів під впливом МТБЕ повинна розглядатись як результат не тільки гідропічних змін цих клітин, але й кардинальної перебудови системи їх мембран. Вакуолізація органел клітини є ознакою серйозних пошкоджень ліпопротеїдного каркасу клітини, який забезпечує її структуроутворюючу функцію. У той же час набухання (загальне або осередкове) цистерн ЕР разом зі зменшенням кількості таких цистерн є свідченням значного порушення трофічних функцій клітини. Тому ступінь вакуолізації осміофільної нервової клітини фактично є істотним критерієм оцінки вираженості репаративних процесів у ній або визначення продовження розвитку деструктивного процесу. Останній внаслідок порушення трофічних функцій

призводить через якийсь період часу до незворотних змін у клітині за сценарієм апоптозу. Переконливими свідченнями апоптогенної та мембранотропної дії МТБЕ є руйнація ядерної оболонки та такий екстремальний феномен, як поява в каріоплазмі нервових клітин вакуолей і пучків мікрофіламентів.

Загалом слід відзначити, що апоптоз – виключно складне явище – характеризується біохімічною альтерацією ядра і цитоплазми і наступними морфологічними змінами останніх; ці зміни складаються з послідовних фаз. Вважається, що кожна фаза запускається відповідною генетичною програмою. Вона реалізується через генну індукцію певних синтетичних процесів, продукцію сигнальних молекул та завершується активацією ендонуклеаз [7, 9]. Початкова, зворотна, фаза апоптозу практично не ідентифікується морфологічно. Її початок пов'язаний із дією внутрішньоклітинних факторів та індукторів апоптозу [9]. Більш глибокі чітко видимі зміни структури клітини відповідають кінцевій, необоротній, фазі апоптозу [4–6, 9]. Зрозуміло, що інтенсивний апоптоз драматично впливає на розвиток і стабілізацію певного порядку міжнейронних зв'язків. Розбалансування процесів репарації та “природного” зменшення кількості клітин виступає як вирішальний фактор патологічної реорганізації та дегенерації нейронних ланцюгів [4, 5]. Останнє слід враховувати при визначенні можливих патогенетичних механізмів нейротропного впливу МТБЕ.

Отже, результати нашого дослідження вказують на те, що патерн наслідків тривалої інтоксикації організму ссавців, зумовленої введенням МТБЕ, є до певної міри парадоксальним. Цей агент не впливає катастрофічно на інтегральну життєздатність експериментальних тварин (щурів), але спроможний індукувати дуже істотні ультраструктурні зрушення у значній частині нейронів фронтальної частки кори великих півкуль. При достатній тривалості введення МТБЕ такі зрушення можуть вилитися в інтенсивний процес апоптозу, що призводить до масової загибелі кортикальних нейронів. Зрозуміло, що в даному випадку функції відповідних нейронних систем неокортексу будуть обов'язково підлягати кардинальній негативній модифікації. Може виникнути питання, чому ж настільки значні патологічні процеси в неокортексі відносно помірно позначилися (навіть при найвищих дозах МТБЕ) на поведінці експериментальних тварин. Очевидно, інтоксикація МТБЕ індукувала менш інтенсив-

ні негативні структурно-функціональні зрушення в “нижчих” ділянках ЦНС, відповідальних за контроль основних автономних функцій та певні аспекти моторного контролю, а також безпосередньо в тканинах різних функціональних систем організму. Це зумовлювало збереження основних життєвих функцій тварин на більш-менш задовільному рівні, а негативні модифікації поведінки в “теплих” умовах утримання даних тварин у віварії, без спеціального тестування, були відносно малопомітними. Проте очевидно, що після хронічної інтоксикації МТБЕ такі щури, у котрих значна частина нейронів неокортексу загинула або зазнала істотних необоротних патологічних змін, мали б дуже низькі шанси на успішне виживання в умовах, наближених до природних. Останні потребують адекватного рівня реалізації вищих функцій ЦНС, насамперед когнітивних, а на подібний рівень при тому стані нейронних систем неокортексу, який спостерігався в наших експериментах, очевидно, годі сподіватися.

Наше повідомлення в основному торкалось якісного аспекту модифікацій, котрі відбуваються в нейронах кори великих півкуль в умовах інтоксикації МТБЕ. Для того, щоб визначити кількісні характеристики цих ефектів, потрібні подальші спеціальні дослідження. Аналогічних досліджень, очевидно, потребує такий комплекс питань, як порівняльна чутливість різних структур ЦНС до дії даного агента. Самостійний інтерес становить проблема вірогідних змін різних аспектів поведінки та когнітивних функцій під впливом цього токсиканта. Проте вже зараз стає очевидним, що для МТБЕ є характерною потужна нейротропна дія, і він здатний викликати дуже істотні негативні структурно-

функціональні зрушення в ЦНС. Особливу небезпеку становить той факт, що ефекти інтоксикації МТБЕ в ЦНС є кумулятивними і проявляються при дії дуже низьких кількостей даного агента, на декілька порядків (!) менших за ті, котрі зумовлюють небезпечний вплив на інтегральну життєздатність організму. Це ще раз підкреслює ту обставину, що значення МТБЕ як дуже небезпечного глобального забруднювача довкілля не можна недооцінювати.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ю. О. Паустовський, “Екологічно-токсикологічна оцінка глобального забруднювача довкілля – метилтретбутилового ефіру (стан та перспективи)”, в кн.: *Пріоритетні проблеми гігієни праці, професійної та виробничо-зумовленої захворюваності в Україні*, НМУ, Київ (2008), с. 150-159.
2. О. П. Яворовський, В. І. Зенкіна, “Метилтретбутиловий ефір як глобальний забруднювач довкілля. Токсикологічні та екологічні аспекти ризику впливу в Україні”, *Довкілля та здоров'я*, **35**, № 4, 75-80 (2005).
3. О. П. Яворовський, Ю. О. Паустовський, В. А. Дроботенко та ін. “Гігієнічна оцінка умов праці та стан здоров'я робітників, зайнятих виготовленням метилтретбутилового ефіру на Лисичанському НПЗ”, *Довкілля та здоров'я*, **40**, № 1, 34-38 (2007).
4. Ю. А. Челишев, Г. В. Черепнев, К. И. Сайткулов, “Апоптоз в нервной системе”, *Онтогенез*, **32**, № 2, 118-129 (2001).
5. С. Г. Калиниченко, Н. Ю. Матвеева, “Морфологическая характеристика апоптоза и его значение в нейрогенезе”, *Морфология*, **131**, № 2, 16-28 (2007).
6. G. Hacker, “The morphology of apoptosis,” *Cell Tissue Res.*, **310**, 5-17 (2000).
7. O. M. Hengarten, “The biochemistry of apoptosis,” *Nature*, **407**, 770-775 (2000).
8. N. Yan and Y. Shi, “Mechanism of apoptosis through structural biology,” *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.*, **21**, 35-56 (2005).
9. М. А. Пальцев, “Молекулярные основы апоптоза”, *Вестн. РАМН*, **72**, № 1, 13-21 (2002).