

DOI 10.29254/2077-4214-2019-4-1-153-224-227

УДК 617.723/.35-005:616.547.26-778.317-092.9

Молчанюк Н. І.

ВПЛИВ СУМІШІ СПИРТІВ (40 % ЕТАНОЛУ І 100 % МЕТАНОЛОУ) НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ СУДИННОЇ ТА СІТЧАСТОЇ ОБОЛОНОК ОЧЕЙ ЩУРІВ

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П. Філатова НАМН України» (м. Одеса)

elmicroscop@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Данна робота виконана в рамках науково-дослідної теми: «Вивчити структурно-функціональні зміни елементів хоріопретинального комплексу очей щурів, які викликані сумішшю спиртів (40% розчином етанолу і 100% метанолом) у співвідношенні 3:1», № державної реєстрації 0118U001611.

Вступ. Значне розповсюдження метанолу в різних областях промисловості і в повсякденності, а також його застосування в неякісних напоях, що призводить до втрати зору, а інколи і до сліпоти, викликає необхідність у вивчені початкових механізмів його токсичної дії та дії його в поєданні з етанолом в органах і системах організму тварин. В наукових джерелах відмічено, що метанол первинно пошкоджує сітківку, зоровий нерв та тканини головного мозку [1,2,3,4]. Нами протягом 10 років вивчаються ультраструктурні зміни в тканинах заднього відділу ока щурів, викликані різними дозами метанолу з метою детального розуміння початкових механізмів пошкоджуючої дії на вказані структури [5].

На даний час в літературі експериментальних і, особливо, морфологічних, відомостей стосовно впливу суміші спиртів (метанолу та етанолу) на органи та тканини експериментальних тварин залишається досить мало [6,7]. Відомо, що етанол являється антидотом до метанолу і активно застосовується в клініці при проведенні детоксикаційних заходів при отруєнні постраждалих неякісними спиртними напоями, які містять метанол, оскільки етанол здатний конкурувати з метанолом за зв'язок з ферментом алкогольдегідрогеназою, який метаболізує спирти. За даними ряду авторів метанол і етанол по різному проникають в клітини із кишково-шлункового тракту в кровоносні русло і мають різну швидкість проникнення [7]. Відомо також, що на відміну від етанолу, метанол повільно виводиться із організму і може в ньому знаходитись 3-4 дні, поступово перетворюючись в формальдегід та муршину кислоту. В той же час, ряд дослідників виявили в експериментах на білих щурах, що етанол при використанні його в якості антидоту при гострій інтоксикації метанолом (1,0 LD50) викликає посилення імунотоксичних ефектів [8]. Однак в літературному пошуку ми не зустріли відомостей стосовно структурних змін в тканинах головного мозку та очей експериментальних тварин, зокрема, в судинній та сітчастій оболонках, викликаних сумішшю вищевказаних спиртів.

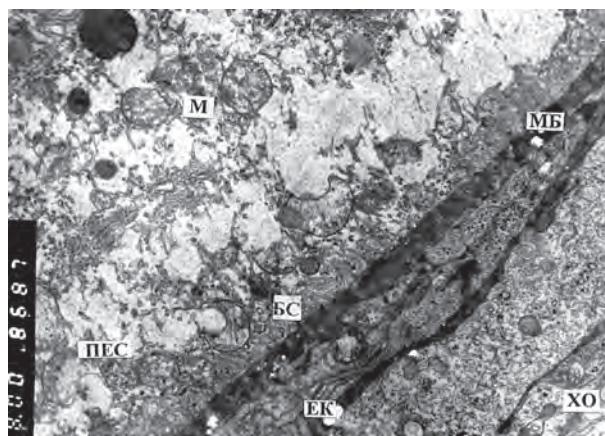
Мета дослідження. Вивчення впливу суміші спиртів (40 % етанолу і 100 % метанолу) у співвідношенні 3:1 в динаміці на ультраструктуру судинної та сітчастої оболонок очей щурів.

Об'єкт і методи дослідження. Робота виконана на 26 дорослих білих щурах лінії Вістар масою 250-300 г, підрозділених на 3 групи: I-ша група (піддослідна) – внутрішньочеревне одноразове введення

(ВОВ) щуром суміші спиртів (40 % етанолу і 100 % метанолу) в якій доза метанолу складала 2,5 г/кг маси їх тіла; II (піддослідна) – ВОВ 100 % метанолу в дозі 2,5 г/кг; III – контрольна, щуром ВОВ воду для ін'єкції в аналогічній дозі. Для щурів ефект LD50 при ВОВ метанолу складає 9,5 г/кг маси їх тіла. Ін'єкції тваринам та їх евтаназія здійснювались відповідно до вимог Європейської конвенції (Страсбург, 1986). Тканини для дослідження оброблялись по загальноприйнятій в електронній мікроскопії методиці. Вивчалась ультраструктура ендотеліальних клітин (ЕК) судин та капілярів хоріоідеї (ХО), пігментний епітелій сітківки (ПЕС), фоторецепторні клітини (ФК), гангліозні клітини та відростки мюллерівських клітин (ВМЮК) через 1 годину, 3 години, 1, 3 і 7 діб після введення токсичних речовин в трансмісійному електронному мікроскопі ПЕМ-100-01 (Україна).

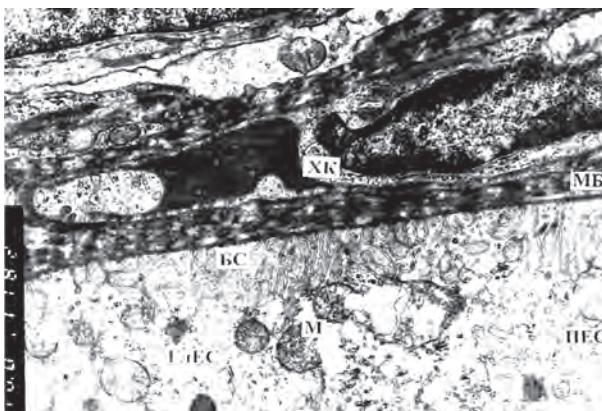
Результати дослідження та їх обговорення. Через 1-3 години після введення суміші спиртів ЕК судин крупного та середнього калібрів ХО знаходилися в стані набряку, а серед хоріокапілярів (ХК) лише окрім ЕК мали просвітлення цитоплазми та альтерацію мітохондрій, інші ЕК мали нормальну ультраструктуру або збільшений вмістом полісом. Просвіт судин і капілярів ХО, а також основна речовина мембрани Бруха мали підвищену електронну щільність. Фенестри ЕК ХК практично були відсутні.

В клітинах шару ПЕС пошкоджувались органели різного ступеня прояву. В частині з них значно були зруйновані пухирці гладкої ендоплазматичної сітки (ГлЕС) та цистерни гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС), з утворенням в цитоплазмі великих безструктурних ділянок, мітохондрій, в зменшенні кіль-



Умовні познаки: ХО – хоріоідея, ЕК – ендотеліальна клітина хоріокапіляра, ПЕС – пігментний епітелій сітківки, МБ – мембрана Бруха, БС – складки на базальній поверхні, М – мітохондрії.

Рисунок 1 – Судинна та сітчаста оболонки щура через 3 години після введення суміші спиртів. Електронно-щільний просвіт хоріокапілярів різко звужений. Тотальна деструкція пухирців та цистерн ендоплазматичної сітки і патологія мітохондрій в клітині пігментного епітелію сітківки. Х 8 000.



Умовні познаки: ХК – хоріокапіляр, МБ – мембрана Бруха, ПЕС – пігментний епітелій сітківки, БС – складки на базальній поверхні, М – мітохондрії, ГЛЕС – гладка ендоплазматична сітка.

Рисунок 2 – Судинна та сітчаста оболонки щура через 3 години після введення 100 % метанолу. Ендотеліальні клітини хоріокапілярів в стані гідропічної дистрофії. Деструкція органел та складок на базальній поверхні в клітині пігментного епітелію сітківки. Х 4 000.

кості, з просвітленим матриксом та осередковою або повною деструкцією крист. В той же час в клітинах відмічається збільшення кількості первинних та вторинних лізосом. Ядра клітин великі, подовженої форми. Базальні складки таких клітин ПЕС укорочені, звивисті, місцями відсутні, що свідчить про порушення насосної функції цих клітин і зменшення транспортних процесів з ХК. Апікальні мікроворсинки практично нормальні, але ознаки процесу фагоцитозу не спостерігаються і обломки дисків зовнішніх сегментів (ЗС) фоторецепторних клітин (ФК) скупчено лежать під цими клітинами (**рис. 1**).

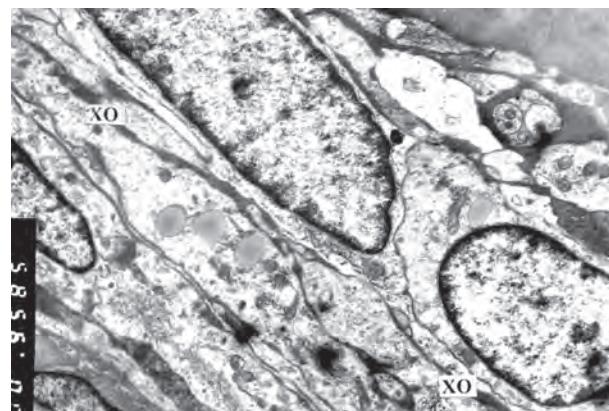
В інтеррецепторному матриксі та між клітинами ФК визначався набряк. Легкі гідропічні зміни були притаманні і клітинам сітківки: осередкова вакуолізація мембрани дисків ЗС ФК, просвітлення цитоплазми, розширення цистерн ГЕС, набряк внутрішньомітохондріального матриксу і деструкція крист мітохондрій внутрішніх сегментах (ВС) ФК та в гангліозних клітинах (ГК). Значний набряк цитоплазми відмічався у відростках мюллерівських клітин (ВМЮК), які оточують ядра ФК.

Після введення 100 % метанолу зміни в ХО та сітківці в цей період часу носили однотиповий характер, за винятком ХК, в яких більшість ЕК ХО також мали явища гідропічної дистрофії (**рис. 2**).

В динаміці спостереження (до 7 діб) явища гідропічної дистрофії прогресували у всіх досліджуваних структурах ХО та сітківки з посиленням в них деструкції органел. В той же час паралельно в клітинах цих тканин, особливо в клітинах ПЕС, також виявлялись ознаки компенсаційно-відновлювального характеру, які полягали у активації органел, які посилюють енергоутворючу та білоксинтезуючу функції.

В тварин після ін'єкції метанолу патологічні зміни в досліджуваних тканинах були однотипні, що і після такої СС, але виявлялися в більшій мірі (**рис. 3**).

Аналіз матеріалу показав, що уже через годину спостереження суміш спиртів викликала гідропічну дистрофію ЕК судин та частини ЕК ХК. Просвіт судин та капілярів характеризувався підвищеною електронною щільністю по відношенню до такого у тварин контрольної групи, що підтверджує знаходження суміші спиртів в ньому, а також говорить про підвище-



Умовні познаки: ХО – хоріоідея.

Рисунок 3 – Хоріоідея щура через 7 діб після введення 100 % метанолу. Гідропічна дегенерація ендотеліальних клітин судин та капілярів і набряк основної речовини сполучної тканини. Х 5 000.

ну кількість речовин ліпідної природи, які, вочевидь, утворились під токсичною дією спиртів, і, зокрема, метанолу, про що і підтверджують попередні наші дослідження і дані літератури [9,10]. Такий стан в ХК призводить до дефіциту поживних речовин клітинам ПЕС, а, в подальшому, і ФК. Однак не виключена і пряма дія спиртів на мембрани клітин ПЕС. Можливо тому і процес фагоцитозу різко перерваний в перші години спостереження, що приводить до недостачі ретиналу, який звільняється в клітині із мембран відпрацьованих дисків ЗС ФК під час переварювання їх лізосомами, а також дефіцит вітаміну А, який повинен поступати з печінки, унеможливлюють утворення зорового пігменту, який приймає участь в перетворенні світової енергії в енергію нервового імпульсу, що і призводить до часткової, а при вживанні більших дозах метанолу, і до втрати зору. І, в цілому, веде до дистрофії сітківки [11].

В подальші строки спостереження (до 7 доби) після введення суміші спиртів патологічні зміни в ЕК судин та капілярів і в клітинах ПЕС наростили, розповсюджувались на більшу кількість клітин і ставали більш глибокими, особливо в ПЕС, що призводило до прогресування змін і в інших досліджуваних клітинах сітківки. Серед ФК зустрічалися такі в стані некрозу. Слід відзначити, що в динаміці дослідження в цих клітинах також проявлялися ознаки відновлювального характеру.

В досліджуваних тканинах в ці строки після ін'єкції метанолу патологічні зміни були однотипні, що і після ін'єкції суміші спиртів, але вони проявлялися в більшій мірі. Провідне місце в розвитку патологічних процесів в ХО та сітківці, викликаних сумішшю спиртів, відводиться метанолу.

Висновки

- Суміш спиртів, в якій доза метанолу складала 2,5 г/кг маси тіла щура, викликає значні ультраструктурні зміни в ЕК судин ХО і в клітинах ПЕС щурів вже через 1 годину після її введення. В період від 3 години до 7 діб спостереження деструктивні процеси в структурах судинної та сітчастої оболонок прогресують із паралельним проявом в них компенсаційно-відновних процесів.

- 100% метанол викликає однотипові зміни в досліджуваних елементах судинної та сітчастої оболо-

нок, що і суміш спиртів, але вони носять більш глибокий характер.

Перспективи подальших досліджень. Передбачається подальше проведення більш поглиблених і детальних досліджень, включаючи інші елементи

зорового аналізатора, з метою виявлення первинних ланок і тонких початкових механізмів розвитку патологічних процесів в ньому, викликаних токсичною дією як метанолу, так і суміші його з етанолом, що призводять до різкого зниження гостроти зору.

Література

1. Manuchehri AA, Alijanpour E, Daghmechi M, Ghaemian N, Abedi SH, Nikbaksh N, et al. A case of methanol poisoning leading to prolonged respirator dependency with consequent blindness and irreversible brain damage. Caspian Journal of Internal Medicine. 2015;6(3):180-3.
2. Rajamani R, Muthuvel A, Senthilvelan M, Sheeladevi R. Oxidative stress induced by methotrexate alone and in the presence of methanol in discrete regions of the rodent brain, retina and optic nerve. Toxicol. Lett. 2006;12(5):12-5.
3. Zakharov S, Pelclova D, Diblik P, Urban P, Kuthan P. Long-term visual damage after acute methanol poisonings: longitudinal cross-sectional study in 50 patients. Clinical Toxicology. 2015;53(9):884-92.
4. Setiohadji B, Irfani I, Rifada M, Virgana R, Kartasasmita AS. The Superoxide Dismutase Mimetic Tempol and Its Effect on Retinal Ganglion Cells in Experimental Methanol-Intoxicated Rats. Ophthalmol. Ther. 2018;7(1):167-72.
5. Molchanyuk NI. Sveto- i elektronno-mikroskopicheskoe izuchenie khoriokapillyarov, pigmentnogo e'piteliya i fotoreceptornyykh kletok set-chatki kry's v dinamike posle vvedeniya razlichnykh doz metanola. Vi'snik Kiyiv'skogo naczi'onal'nogo universitetu imeni Tarasa Shevchenka. Problemy regul'yaczi'yi fiziologii chinnikh funkci'j. 2015;1(18):74-8. [in Russian].
6. Pohanka M. Toxicology and the biological role of methanol and ethanol: Current View. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2016;160(1):54-63.
7. Golovenko NYa, Larionov VB, Ovcharenko NV, Borisuk IYu, Likhota E[B. Toksiko-kineticheskoe vzaimodejstvie e'tilovogo i metilovogo spirtov v organizme belykh my'shej. Sovremennye problemy' toksikologii. 2008;1:32-6. [in Russian].
8. Zabrodskij PF, Germanchuk VG. Vliyanie e'tanola na izmenenie immunotoksichnosti metanola. E'ksperim. i klin. farmakol. 2001;64(5):40-2. [in Russian].
9. Patra M, Salonen E, Teramaetal E. Under the influence of alcohol: the effect of ethanol and methanol on lipid bilayers. Biophys. J. 2006;90(2):1121-35.
10. Serov VV, Zabrodskij PF, Kirichuk VF. Vliyanie ostrogo otravleniya metanolom na perekisnoe okislenie lipidov i koncentracziyu v krovi kortikosterona. Vestn. novykh medicinskikh tekhnologij. 2007;XIV(1):81-5. [in Russian].
11. Ostrovskij MA, Fel'dman TB. Khimiya i molekul'arnaya fiziologiya zreniya, svetochuvstviteln'yj belok rodopsin. Uspekhi khimii. 2012;81(11):1071-90. [in Russian].

ВПЛИВ СУМІШІ СПИРТІВ (40 % ЕТАНОЛУ І 100 % МЕТАНОЛУ) НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ СУДИННОЇ ТА СІТЧАСТОЇ ОБОЛОНОК ОЧЕЙ ЩУРІВ

Молчанюк Н. І.

Резюме. Ультраструктурно вивчались ендотеліальні клітини судин та капілярів хоріоїдеї, пігментний епітелій сітківки, фоторецепторні клітини, гангліозні клітини та відростки мюллерівських клітин щурів через 1 і 3 години, 1, 3 і 7 діб після внутрішньочеревне одноразове введення (ВОВ) суміші 40 % етанолу і 100 % метанолу та окремо 100 % метанолу (доза метанолу складала 2,5 г/кг маси тіла щурів) в трансмісійному електронному мікроскопі ПЕМ-100-01. Суміш спиртів викликала значні зміни в ендотеліальних клітинах судин хоріоїдеї і в клітинах пігментного епітелію сітківки щурів вже через 1 годину після її введення. В період від 3 години до 7 діб спостереження деструктивні процеси в структурах судинної та сітчастої оболонок прогресували із паралельним проявом в них компенсаторно-відновлювальних процесів. 100 % метанол викликав однотипові зміни в досліджуваних елементах судинної та сітчастої оболонок, що і суміш спиртів, але вони носили більш глибокий характер.

Ключові слова: ультраструктура, судини, капіляри, хоріоїдея, пігментний епітелій сітківки, фоторецепторні клітини, гангліозні клітини, відростки мюллерівських клітин.

ВЛИЯНИЕ СМЕСИ СПИРТОВ (40 % ЭТАНОЛА И 100 % МЕТАНОЛА) НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ СОСУДИСТОЙ И СЕТЧАТОЙ ОБОЛОЧЕК ГЛАЗ КРЫС

Молчанюк Н. И.

Резюме. Ультраструктурно изучались эндотелиальные клетки сосудов и капилляров хориоиды, пигментный эпителий сетчатки, фоторецепторные и ганглиозные клетки, а также отростки мюллеровских клеток крыс через 1 и 3 часа, 1, 3 и 7 суток после внутрибрюшного однократного введения смеси 40 % этанола и 100 % метанола и отдельно 100 % метанола (доза метанола составляла 2,5 г/кг массы тела крысы) в трансмиссионном электронном микроскопе ПЭМ-100-01. Смесь спиртов вызывала значительные изменения в эндотелиальных клетках сосудов хориоиды и в клетках пигментного эпителия сетчатки крыс уже через 1 час после ее введения. В период с 3 часов до 7 суток наблюдения деструктивные процессы в структурах сосудистой и сетчатой оболочек прогрессировали с параллельным проявлением в них компенсаторно-восстановительных процессов. 100 % метанол вызывал однотипные изменения в исследуемых элементах сосудистой и сетчатой оболочек, что и смесь спиртов, однако они носили более глубокий характер.

Ключевые слова: ультраструктура, сосуды, капилляры, хориоидия, пигментный эпителий сетчатки, фоторецепторные клетки, ганглиозные клетки, отростки мюллеровских клеток.

THE IMPACT OF THE MIXTURE OF ALCOHOLS (40 % ETHANOL AND 100 % METHANOL) ON THE ULTRASTRUCTURE OF THE VASCULAR AND RETINAL SHELLS OF RATS' EYE

Molchaniuk N. I.

Abstract. The aim of the study. The study of the impact of the mixture of alcohols (40 % ethanol and 100 % methanol) at a ratio of 3:1 in dynamics on the ultrastructure of the vascular and retinal shells of rats.

Object and methods. The work was performed on 26 white adult Wistar rats with weight of 250-300 g, subdivided into 3 groups: 1st group (experimental) – intraperitoneal single injection (ISI) to rats of a mixture of alcohols (40 % ethanol and 100 % methanol); 2nd group (experimental) – ISI of 100 % methanol. The methanol dose in the two study groups was 2.5 g/kg of rats' body weight, 3rd group (control) – the ISI rats' injection in a similar dose. For the rats, the effect of LD₅₀ with ISI of methanol is 9.5 g/kg of body weight. Injections and euthanasia were administered in accordance with the requirements of the European Convention (Strasbourg, 1986). With help of electron-microscop had been studied the endothelial cells of vessels and capillaries of the choroid, pigmented epithelium of the retinal, its photoreceptor and ganglion cells, as well as processes of the Muller's rat's cells in 1 and 3 hours, 1, 3, and 7 days after ISI in a transmission electron microscope TEM-100-01.

Results and discussion. 1 hour after the injection of a mixture of the alcohols endothelial cells (EC) vessels were in a state of edema, and in choriocapillaris (CC) only a single EC. The lumen of XO vessels and capillaries, as well as the main substance of the Bruch's membrane, had high electron density. Fenestra EC CC were virtually absent. In the layer of the retinal pigment epithelium (RPE) were damaged organelles of cells of varying degrees of severity, until their complete destruction with focal destruction of the plasmalemma on the basal and apical sides of the cell. These cells also showed an increase in the number of lysosomes. Phagosomes were practically absent in them, indicating that the process of phagocytosis of the disks of the outer segments of photoreceptor cells was impaired. Other layers of the retina were characterized by slight hydropic changes.

In the dynamics (up to 7 days) in all the investigated structures of the vascular and retinal shells revealed hydropic degeneration progressed. These structures, especially in RPE cells, also showed signs of a compensatory-regenerative behavior, aimed at enhancing energy-forming function and white-synthetic processes. After methanol injection, the pathological changes in these tissues were the same as those after the injection of the alcohol mixture, but they were more profound.

Conclusions

1. A mixture of alcohols in which the methanol dose was 2.5 g/kg body weight of the rat causes significant ultrastructural changes in the endothelial cells of the choroid vessels and in the cells of the rat retinal pigment epithelium within 1 hour after its introduction. In the period from 3 hours to 7 days of observation, the destructive processes in the structures of the vascular and retinal membranes progress with the parallel manifestation of compensatory-restorative processes in them.

2. 100% methanol at the above dose causes the same type of changes in the investigated elements of the vascular and mesh, as the mixture of alcohols, but they are more profound.

Key words: ultrastructure, vascular, capillary, choroid, retinal pigment epithelium, retina's photoreceptor cells, retina's ganglion's cells, processes of the Muller's cells.

Рецензент – проф. Білаш С. М.
Стаття надійшла 03.10.2019 року

DOI 10.29254/2077-4214-2019-4-1-153-227-231

УДК 591.481.3 + 616.005

^{1,2}Пшиченко В. В., ¹Кучер О. О., ¹Тарасова С. М., ¹Костенко І. Л., ³Черно В. С.

ОСОБЛИВОСТІ ЕКСТРАОРГАННОГО КРОВОПОСТАЧАННЯ ЕПІФІЗУ В УМОВАХ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ ТА ПОРУШЕНОГО ФОТОПЕРІОДУ

¹Миколаївський національний університет імені В. О. Сухомлинського (м. Миколаїв)

²Миколаївський аграрний університет (м. Миколаїв)

³Чорноморський національний університет імені Петра Могили (м. Миколаїв)

pshychenko85@gmail.com

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Наукове дослідження є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри хімії Миколаївського національного університету імені В.О. Сухомлинського «Порівняльна морфологія пазух твердої оболони головного мозку хребетних» (№ державної реєстрації 0115U000176, 2015-2020 рр.).

Вступ. Сучасне суспільство зазнає зростаючої дії стресових навантажень, різної тривалості та інтенсивності, що обумовлено відсутністю стабільності в соціально-економічній сфері життя, його стрімким ритмом та темпами, суттєвим погіршенням екологічної ситуації, зростаючим інформаційним навантаженням, порушенням режиму дня, праці і відпочинку, що пов'язано зі збільшенням контингенту осіб, які за характером своєї професійної діяльності змушені працювати вночі. Подібні впливи у комплексі з порушеннями фотoperіоду стали невід'ємною частиною

життя сучасної людини. Все це є пусковим механізмом виникнення і розвитку стресових реакцій. Незважаючи на те, що стрес є адаптивною реакцією організму, він може провокувати виникнення і загострення багатьох патологічних станів [1].

Аналіз публікацій, що вийшли з друку в останні роки, свідчить, про те, що дослідники все більше уваги приділяють пошуку ефективних шляхів корекції станів пов'язаних з впливом стресорних факторів фармакологічними засобами [2,3]. Однак, не дивлячись на той факт, що проблема дослідження механізмів розвитку патологічних змін внаслідок дії стресових факторів набуває все більшої актуальності [3,4], робіт присвячених вивченю морфологічних особливостей епіфізу, як органу, що забезпечує процеси адаптації організму до мінливих умов середовища небагато [5], порівняно з науковими публікаціями результатів досліджень ролі надиркових залоз