

sity lipoproteins, cholesterol of extra low density lipoproteins, triglycerides and atherogenic factor at low concentrations of cholesterol of high density lipoproteins.

There were no significant differences found between the indexes of lipidogram of different levels of severity in the primary ischemic stroke group as well as in the group of recurrent ischemic stroke, and no significant differences between their same name levels of severity were found either.

Key words: recurrent ischemic stroke, blood lipid spectrum.

Danylo Halitsky National Medical University (Lviv)

Рецензент – проф. В.М. Пашковський

Buk. Med. Herald. – 2014. – Vol. 18, № 1 (69). – P. 58-63

Надійшла до редакції 17.12.2013 року

© А.В. Кульматицький, 2014

УДК 616.36-007.21-092.9:614.28-615.9:616-076.4

Н.И. Молчанюк

ВЛИЯНИЕ МАЛОЙ ДОЗЫ МЕТАНОЛА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ ХОРИОРЕТИНАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА ГЛАЗ КРЫС В РАННИЕ СРОКИ ЭКСПЕРИМЕНТА

ГУ "Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова НАМН Украины" (Одесса)

Резюме. Электронно-микроскопически исследовались структуры хориоретинального комплекса (ХРК) глаза [хориокапилляры (ХК) – пигментный эпителий сетчатки (ПЭС) – фоторецепторные клетки (ФК)], белых крыс в период от 40 мин до трёх суток после однократного внутрибрюшинного введения метанола в дозе 0,75 г/кг массы тела. Установлено, что на применённое воздействие в наибольшей степени реагируют клетки ПЭС. В динамике (от 40 мин до трёх суток) в них нарастали деструктивные изменения митохондрий и элементов гладкой эндоплазматической сети, сглаженность базальных складок и очаговое разрушение апикальных

микровилл. Изменение в ХК и ФК носили однонаправленный характер. К концу срока наблюдения эти явления в структурах ХРК распространялись на большее число клеток. Параллельно, во все сроки изучения, и особенно, через одни сутки, отмечались признаками компенсаторно-восстановительного характера. Обращает на себя внимание выраженная реакция митохондрий, являющихся энергообразующими структурами клеток.

Ключевые слова: хориоретинальный комплекс, метанол, ультраструктура, хориокапилляры, пигментный эпителий сетчатки, фоторецепторные клетки.

Введение. Известно, что алкоголизм является серьёзным заболеванием, приводящим к поражению многих жизненноважных органов и систем организма и нередко является причиной инвалидизации и смертности населения [1, 5, 6]. Помимо повышенного употребления спиртных напитков, широкое распространение также находит употребление суррогатов алкоголя, таких как метиловый спирт (метанол), ацетальдегид и др., что может приводить к генетическим изменениям в определенных популяциях населения [1]. В последние годы участились случаи массового отравления метанолом населения, как в Украине, так и других странах, что связано также с распространением некачественной алкогольной продукции. Известно, что употребление метанола человеком в однократной дозе от 30 до 100 мг приводит к летальному исходу. В первую очередь поражаются ткани головного мозга и органа зрения, особенно сетчатка и диск зрительного нерва [7]. В связи с этим возникает важность изучения механизмов его токсичности для человека и для других живых существ. Однако до сих пор остаются малоизученным более тонкие механизмы

токсического действия алкоголя, в частности метанола, на ткани головного мозга и особенно, нервные элементы глаза. Нами найдены единичные работы, посвященные изучению морфологических и электрофизиологических изменений, а также биохимических показателей в сетчатке и зрительном нерве экспериментальных животных, вызванных действием разных доз метанола [7, 8, 9]. Однако мы не нашли материалов, касающихся ультраструктурных изменений в сосудистой и сетчатой оболочках глаз опытных животных при употреблении малых доз метанола.

Цель исследования. Установить эффекты малой дозы метанола на структуры хориоретинального комплекса (ХРК): (хориокапилляры (ХК) – пигментный эпителий сетчатки (ПЭС) – фоторецепторные клетки (ФК) сетчатки) белых крыс в ранние сроки после однократного внутрибрюшинного его введения.

Материал и методы. Работа выполнена на 16 взрослых белых крысах линии Вистар массой 250-300 г, подразделенных на две группы: I – опытная, в которой крысам внутрибрюшинно, однократно вводили метанол из расчета 0,75 г/кг

© Н.И. Молчанюк, 2014

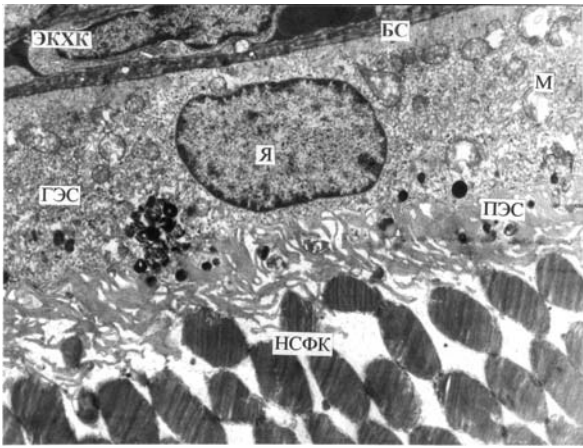


Рис. 1. 40 мин после внутрибрюшинного введения метанола. Альтерация мембранных структур цитоплазмы клеток ПЭС и сглаженность базальных складок. Просвет ХК сужен и заполнен электронно-плотным содержимым

Электронная микрофотография. X 4 000. ПЭС – пигментный эпителий сетчатки, М – митохондрия, БС – базальные складки, ХК – хориокапилляры

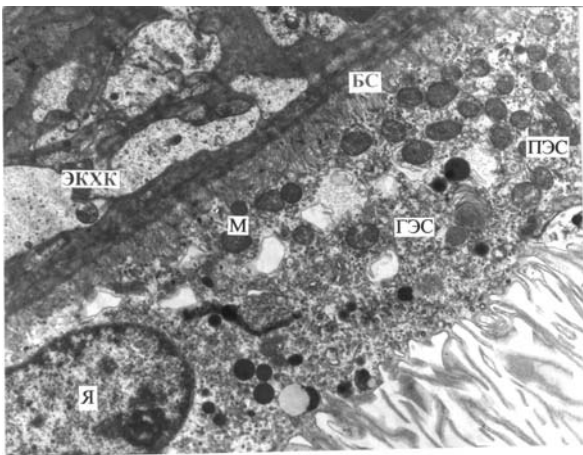


Рис. 3. Трое суток после внутрибрюшинного введения метанола. Очаговое разрушение элементов гладкой эндоплазматической сети и скопление митохондрий в клетке ПЭС. Базальные складки слабо выражены, апикальные микровиллы фрагментированы. Электронная микрофотография. X 4 000. ПЭС – пигментный эпителий сетчатки, М – митохондрия, БС – базальные складки

массы тела, т.е. в сравнительно небольшой дозе. Для крыс эффект ЛД50 при внутрибрюшинном введении метанола достигается в дозе 9,5 г/кг массы тела животного. II группа – контрольные животные, которым вводили физраствор в эквивалентном объеме. Изучался материал через 40 и 70 минут, одни и трое суток после введения метанола. Исследовалась ультраструктура ХК, ПЭС и ФК сетчатки. Эвтаназия животных осуществлялась методом декапитации в соответствии с "Требованиями биоэтики Хельсинской декларации об этическом регулировании медицинских исследований". Затем производился забор материала и его обработка для электронно-микроскопического исследования по общепринятой методике. Изучались и фотографировались объекты в электронном микроскопе ПЭМ-100-01.

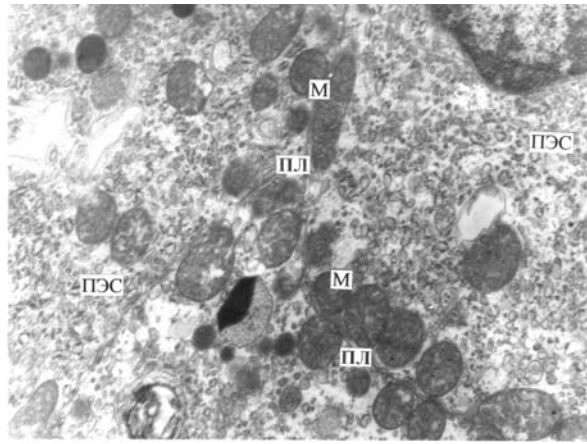


Рис. 2. Одни сутки после внутрибрюшинного введения метанола. Скопления крупных митохондрий у плазмалемм двух смежных клеток ПЭС

Электронная микрофотография. X 8 000. ПЭС – пигментный эпителий сетчатки, М – митохондрия, ПЛ – плазмалемма

Результаты исследования и их обсуждение.

При электронно-микроскопическом исследовании через 40-70 минут после введения метанола в ХК, в отличие от материала контрольной группы, отмечалось электронно-плотное содержимое просвета капилляров и наблюдался сладж эритроцитов в нем. В цитоплазме большей части эндотелиальных клеток (ЭК) ХК наблюдалось увеличение количества свободных рибосом и полисом, элементов зернистой эндоплазматической сети (ЗЭС), а также митохондрий. Ряд ЭК имели признаки отека как цитоплазмы, так и внутриклеточных органелл, особенно митохондрий. Через 70 мин в просвете некоторых ХК наблюдались также лейкоциты.

В сетчатке в эти сроки слой ПЭС имел нормальную архитектуру, и большую часть клеток с нормальной структурой, наблюдалось лишь некоторое повышение числа митохондрий различных размеров. Однако часть клеток ПЭС отличалась от нормы: они имели укороченные или местами сглаженные базальные складки. Ядра этих клеток имели несколько повышенное число хроматина в конденсированном состоянии. В цитоплазме отмечалось уменьшение количества и рыхлое расположение элементов гладкой эндоплазматической сети (ГЭС). Между элементами ГЭС наблюдались лизосомы и вторичные лизосомы. Обращало на себя внимание повышенное количество митохондрий в клетках, часть этих органелл имели крупные размеры и набухший внутримитохондриальный матрикс с отсутствием крист, другие – меньшего размера, имели фрагментированные кристы (рис. 1).

Следует отметить, что апикальные микровиллы этих клеток были местами разрушены или фрагментированы. Под этими клетками лежали крупные обломки наружных сегментов (НС) ФК. В слое ФК сетчатки участками наблюдали дезорганизацию в области НС и внутренних сегментов

(ВС), а также отмечали очаговую деструкцию мембран дисков НС, фрагментацию крист у части митохондрий ВС и гипертрофию к. Гольджи в цитоплазме этих клеток. В области ядер ФК наблюдался отек отростков мюллеровских клеток.

Через одни сутки после введения метанола в элементах ХРК оставались изменения, которые были присущи им в предыдущие сроки. Однако в слое ПЭС в большей части клеток выявлялось увеличение количества митохондрий. Эти органеллы имели средние и крупные размеры с хорошо выраженными кристами и плотным внутримитохондриальным матриксом, располагающихся под базальными складками, и, особенно, вдоль боковых поверхностей клеток, что свидетельствовало об усилении энергетического обмена между ними (рис. 2).

В этих же областях сосредоточено большое количество окаймленных пузырьков, элементов ЗЭС и мелких лизосом, что свидетельствовало об усилении метаболических процессов в этих клетках. В клетках ПЭС с выраженными признаками патологических изменений также отмечалось повышенное число митохондрий, однако они имели различную степень повреждения крист. Единичные органеллы имели разрушенную наружную мембрану.

Ультраструктура ФК, контактирующих с клетками ПЭС, характеризовалась теми же изменениями, которые были описаны в этих структурах в предыдущих сроках.

В срок трое суток после введения метанола в структурах ХК, наряду с изменениями, которые были описаны в них в предыдущем сроке, отмечалось больше ЭК ХК с признаками отечных изменений и деструкцией митохондрий. В ПЭС проявлялись полиморфные изменения: часть клеток имела структуру близкую к нормальной, другая – с признаками отечных изменений и очаговым разрушением элементов ГЭС и деструкцией крист митохондрий, хотя количество митохондрий в клетках оставалось повышенным, третья – с практически полной альтерацией цитоплазматических органелл. В клетках с выраженными признаками деструкции внутриклеточных структур базальная складчатость отсутствовала, апикальные микровиллы были очагово разрушены (рис. 3).

Описанные изменения в структурах слоя ФК сетчатки в ранние сроки были присущи этим элементам и в данном сроке, отличаясь лишь глубиной проявления, которая коррелирована со степенью выраженности патологического процесса в клетках ПЭС.

Анализ полученных результатов показал, что однократная малая доза метанола (0,75 г/кг) вызывала патологические изменения в структурах ХРК. Наиболее чувствительными к его действию оказались клетки ПЭС. В начальные сроки (до 70 мин) альтеративные изменения наблюдались в небольшом количестве клеток и проявлялись в деструкции митохондрий и элементов ГЭС, в сглаживании базальных складок и очаго-

вом разрушении апикальных микровилл. Слабо выраженная базальная складчатость клеток ПЭС свидетельствовала о снижении их насосной функции. Кроме того, во все сроки изучения в ХК мы отмечаем электронно-плотное содержимое просвета, что, очевидно, также связано с токсическим действием метанола. В литературе имеются данные об изменении реологических свойств крови, элементов деструкции белков и повреждении форменных элементов, располагающихся в просвете микрососудов, вызванных действием этанола и метанола [3, 4]. Это приводило к дефициту необходимых веществ в клетках ПЭС и нарушению нормального их функционирования. Разрушение апикальных микровилл ПЭС приводит к нарушению процесса фагоцитоза, скоплению обломков НС ФК под клетками ПЭС. В научной литературе также имеются публикации о повреждающим действием алкоголя плазматических мембран клеток [2]. Патологические изменения в клетках ПЭС способствовали альтерации ФК. В то же время, на протяжении всего периода наблюдения параллельно с явлениями патологии в структурах ХРК мы наблюдали активацию внутриклеточных элементов, отражающую усилением белоксинтезирующей деятельности и, особенно, энергообразующей функции, что есть проявлением компенсаторно-восстановительного характера и эти явления были наиболее выражены к первым суткам наблюдения. Однако к третьим суткам явления альтерации прогрессировали и проявлялись в большей части изучаемых структурах ХРК.

Таким образом, в данном фрагменте исследования нами установлено, что на примененную дозу метанола в наибольшей степени реагировали клетки ПЭС. От функционирования ПЭС зависела нормальная деятельность как ХК, так и ФК сетчатки. Обращала на себя внимание выраженная реакция митохондрий, являющихся энергообразующими структурами клетки. Подавление энергии клетки ведет к нарушению ее метаболизма, т.к. основные реакции в ней являются энергозависимыми.

Выводы

1. Однократное внутрибрюшинное введение метанола в дозе 0,75 г/кг массы тела крыс вызывает наиболее выраженные изменения в клетках пигментного эпителия сетчатки, среди структур изучаемого хориоретинального комплекса глаза, заключающиеся в альтерации митохондрий и элементов гладкой эндоплазматической сети, в очаговом разрушении плазматических мембран.

2. В динамике от 40 мин до трёх суток патологические изменения в клетках хориоретинального комплекса глаза прогрессируют.

3. Параллельно с явлениями альтерации в структурах хориоретинального комплекса наблюдаются признаки компенсаторно-восстановительного характера, проявляющиеся в усилении энергообразующей и белоксинтезирующей функций.

Перспективи дальніших досліджень.

Для дальнішого вивчення змін у тканинах заднього відділу ока під впливом метанолу дослідження будуть продовжуватися. Більш глибоке вивчення патології вказаних структур дозволить виявити механізми дії на живий організм як метанолу, так і можливі процеси, викликані етиловим спиртом в організмі людини.

Література

1. Битенський В.С. Роль алкоголізму і наркоманії в демографічному кризисі в Україні / В.С. Битенський // Ж. Акад. мед. наук України. – 2007. – Т. 13, № 3. – С. 543-550.
2. Долматова Л.С. Особливості зміни активності антиоксидантних ферментів в різних типах лейкоцитів крові у хворих хронічним алкоголізмом / Л.С. Долматова, В.В. Ромашина / Патол. Физиол. і експерим. терапія. – 2003. – № 2. – С. 17-19.
3. Серов В.В. Вплив гострого отруєння метанолом на перекисне окислення ліпідів і концентрацію в крові кортикостерона / В.В. Серов, П.Ф. Забродський, В.Ф. Киричук / Вестн. нов. мед. технологій. – 2007. – Т. XIV, № 1. – С. 81.
4. Солонський А.В. Розвиток судин мозку ембріонів і плоду людини в умовах пренатального впливу алкоголю / А.В. Солонський, С.В. Логвинов, Н.А. Кутєпова / Морфологія. – 2007. – Т. 131, № 2. – С. 63-66.
5. Функціонально-морфологічні особливості алкоголю обумовленої патології в залежності від характеру інтоксикації і корекції ноотропілом в експерименті / П.И. Сидоров, Л.Е. Громова, А.Г. Солов'єв [и др.] // Патол. физиол. і експерим. терапія. – 2000. – № 3. – С. 17-19.
6. Шорманов С.В. Структурні зміни головного мозку хворих хронічним алкоголізмом / С.В. Шорманов // Арх. патол. – 2006. – № 1. – С. 19-22.
7. Електрофізіологічні і морфологічні показники, стан зорового аналізатора в динаміці застосування трофіну при інтоксикації метанолом / В.И. Цимбалюк, А.Т. Носов, Л.Л. Чеботарєва [и др.] // Укр. нейрохірург. ж. – 2004. – № 3. – С. 97-102.
8. Retinal toxicity in methanol poisoning / J.L. Treichel, T.G. Murray, T.C. Burton [et al.] // Retina. – 2004. – Vol. 24. – P. 309-312.
9. Oxidative stress induced by methotrexate alone and in the presence of methanol in discrete regions of the rodent brain, retina and optic nerve/ R. Rajamani, A. Muthuvel, M. Senthilvelan [et al.] // Toxicol. Lett. – 2006. – Vol. 12, № 5. – P. 12-15.

ВПЛИВ МАЛОЇ ДОЗИ МЕТАНОЛУ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ ХОРИОРЕТИНАЛЬНОГО КОМПЛЕКСУ ОЧЕЙ ЩУРІВ У РАННІ ТЕРМІНИ ЕКСПЕРИМЕНТУ

Н.І. Молчанюк

Резюме. Електронно-мікроскопічно досліджувалися структури хоріоретинального комплексу (ХПК) очей, [хоріокапілярів (ХК) – пігментний епітелій сітківки (ПЕС) – фоторецепторні клітини (ФК)], білих щурів у період від 40 хв до трьох діб після одноразового внутрішньочеревного введення метанолу в дозі 0,75 г/кг маси тіла. Встановлено, що на застосовану дозу метанолу найбільшою мірою реагують клітини ПЕС. У динаміці (від 40 хв до трьох діб) у них наростали деструктивні зміни мітохондрій і елементів гладенької ендоплазматичної сітки, згладженість базальних складок і вогнище руйнування апікальних мікрівіл. Зміна в ХК та ФК носила односпрямований характер. До кінця терміну спостереження ці явища в структурах ХПК поширювалися на більше число клітин. Паралельно, в усі терміни вивчення, і особливо, через одну добу, відзначалися ознаками компенсаційно – відновлювального характеру. Привертає увагу виражена реакція мітохондрій, які є енергоутворюючими структурами клітини.

Ключові слова: хоріоретинальний комплекс, метанол, ультраструктура, хоріокапіляри, пігментний епітелій сітківки, фоторецепторні клітини.

EFFECT OF METHANOL ON THE ULTRASTRUCTURE OF CHORIORETINAL COMPLEX OF RATS' EYES IN THE EARLY STAGES OF THE EXPERIMENT

N.I. Molchanyuk

Abstract. Electron-microscopic structure of the chorioretinal complex were investigated (CRC), [choriocapillaries (HC) – retinal pigment epithelium (RPE) – photoreceptor cells (FC)], of white rats in a period of 40 min. to 3 days after a single intraperitoneal dose of methanol 0.75 g/kg body weight. It has been established that RPE cells are the most responsive to the dose of the methanol used. In the dynamics (from 40 min. up to 3 days), they grew destructive changes of mitochondria and elements of smooth endoplasmic reticulum, the smoothness of the basal folds and patchy destruction of the apical microvilli. The changes in CC and FC were similar. By the end of the observation period, these phenomena in the CRC structure spread to a larger number of cells. At the same time, during the whole period of the study, and, in particular, after a day, some signs of recovery of compensatory nature were obvious. Attention is drawn to pronounced reaction of mitochondria, which are energy forming structures of a cell.

Key word: methanol, ultrastructure, chorioretinal complex, choriocapillaries, retinal pigment epithelium, photoreceptor cells.

SI "The Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue therapy of the National academy of medical science of Ukraine" (Odessa)

Рецензент – проф. І.С. Давиденко

Buk. Med. Herald. – 2014. – Vol. 18, № 1 (69). – P. 63-66

Надійшла до редакції 13.11.2013 року