

ВПЛИВ СУМІШІ СПИРТІВ (40 % ЕТАНОЛУ І 100 % МЕТАНОЛУ) 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. Дана робота виконана в рамках науково-дослідної теми: «Вивчити структурно-функціональні зміни елементів хоріоретинального 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 вивченні початкових механізмів його токсичної дії та дії його в поєднанні з етанолом в органи і системи 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 його 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 кровоносне 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 мурашину 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.

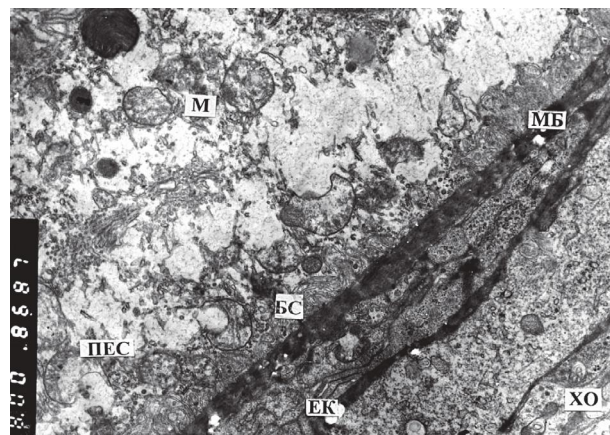
Мета дослідження. Вивчення впливу суміші спиртів (40 % етанолу і 100 % метанолу) у співвідношенні 3:1 в динаміці на ультраструктуру судинної та сітчастої оболонок очей щурів.

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) щурам 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, щурам ВОВ воду для ін'єкцій 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 хоріоїдеї (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).

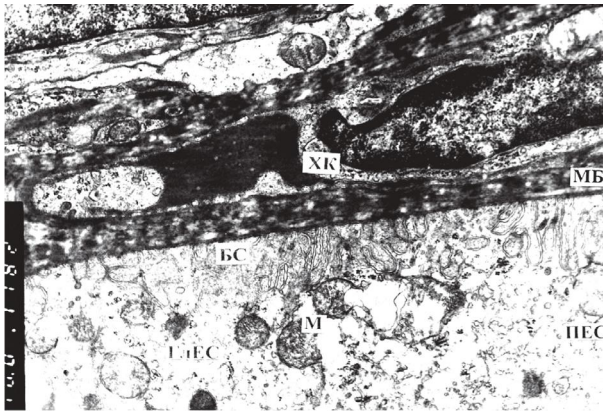
Результати дослідження та їх обговорення. Через 1-3 години після введення суміші спиртів ЕК судин крупного та середнього калібрів ХО знаходилися в стані набряку, а серед хоріокапілярів (ХК) лише окремі ЕК мали просвітлення цитоплазми та альтерацію мітохондрій, інші ЕК мали нормальну ультраструктуру або 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 органи 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, мітохондрії, в зменшеній кіль-



Умовні позначки: ХО – хоріоїдея, 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. X 8 000.



Умовні позначки: 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. X 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 зовнішні сегменти (ЗС) фоторецепторних клітин (ФК) скупчено лежать під цими клітинами (рис. 1).

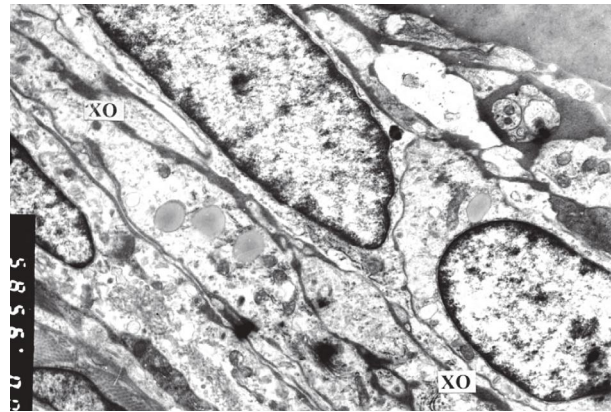
В інтеррецепторному матриксі та між клітинами ФК визначався набряк. Легкі гідропічні зміни були притаманні і клітинам сітківки: осередкова вакуолізація мембран дисків ЗС ФК, просвітлення цитоплазми, розширення цистерн ГЕС, набряк внутрішньомітохондріального матриксу і деструкція крист мітохондрій внутрішніх 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 енергоутворюючу 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 позначки: ХО – хоріоїдея.
Рисунок 3 – Хоріоїдея щура через 7 діб після введення 100 % метанолу. Гідропічна дегенерація ендотеліальних клітин судин та капілярів і набряк основної речовини сполучної тканини. X 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 недостатчі ретиналю, який звільнюється в клітині із мембран відпрацьованих дисків ЗС ФК під час переварювання їх лізосомами, а також дефіцит вітаміну А, який повинен поступати з печінки, унеможливають утворення зорового пігменту, який приймає участь в перетворенні світлової енергії в енергію нервового імпульсу, що і призводить до часткової, а при вживанні більших доз 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 наростали, 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 зустрічались такі в стані некрозу. Слід відзначити, що в динаміці дослідження в цих клітинах також проявлялись 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 проявлялись в більшій мірі. Провідне місце в розвитку патологічних процесів в ХО та сітківці, викликаних сумішшю спиртів, відводиться метанолу.

Висновки

1. 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 оболонки прогресують із паралельним проявом в них компенсаційно-відновних процесів.

2. 100% метанол викликає однотипові зміни в досліджуваних елементах судинної та сітчастої оболонки.

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, Ghaeminan 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. Svetlo- i e`lektronno-mikroskopicheskoe izuchenie khoriokapillyarov, pigmentnogo e`piteliya i fotoreceptorny`kh kletok setchatki kry`s v dinamike posle vvedeniya razlichny`kh doz metanola. Vi`snik Kiyivs`kogo naczi`onal`nogo uni`versitetu i`meni` Tarasa Shevchenka. *Problemi regulyaci`yi fi`zi`ologicheskikh funkczij*. 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, Borisyuk IYu, Likhota E`B. Toksiko-kineticheskoe vzaimodejstvie e`tilovogo i metilovogo spirtov v organizme bely`kh my`shej. *Sovremennyy`e 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, Teramaeta 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. novy`kh mediczinskikh tekhnologij*. 2007;XIV(1):81-5. [in Russian].
11. Ostrovskij MA, Fel'dman TB. Khimiya i molekulyarnaya fiziologiya zreniya, svetochuvstvitel`ny`j 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 хориоїдеї, 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 хориоїдеї 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 оболонки прогресували із паралельним проявом в них компенсційно-відновних процесів. 100 % метанол викликав однотипові зміни в досліджуваних елементах судинної та сітчастої оболонки, що і суміш спиртів, але вони носили більш глибокий характер.

Ключові слова: ультрaструктура, судини, капіляри, хориоїдея, 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 хориоидеи, 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 хориоидеи 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: ультрaструктура, сосуды, капилляры, хориоидея, 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-microscope had been studied the endothelial cells of vessels and capillaries of the choroid, pigmented epithelium of the retina, 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 фотоперіоду 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 вивченню морфологічних особливостей епіфізу, як органу, що забезпечує процеси адаптації організму до мінливих умов середовища небагато [5], порівняно з науковими публікаціями результатів досліджень ролі надниркових залоз