

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭЛЕМЕНТОВ ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА КРЫС В ДИНАМИКЕ ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ МЕТАНОЛА**Н. Е. Думброва**, проф., д-р мед. наук, **Н. И. Молчанюк**, канд. биол. наукГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова
АМН Украины», г. Одесса.

Світлооптично і електронно-мікроскопічно вивчалися зміни гліальних клітин і нервових волокон (НВ) зорового нерва (ЗН) щурів в динаміці (1 — 14 діб) у відповідь на однократне введення метанолу в дозі 0,75 г/кг маси тіла.

Показано, що в ЗН, у відповідь на дію метанолу, були найбільш виражені зміни НВ: на 1 — 7 добу проявлялись набряком аксоплазми, розширенням мієлінової оболонки, набряком мітохондрій. На 14 добу ознаки набряку аксоплазми зменшувались, проте спостерігалась різка деформація мієлінової оболонки значної частки НВ. Тоді як гліальні клітки виявились стійкішими до ушкоджуючого чинника. У цих клітинах відмічалась поліморфна реакція мітохондрій: від часткової деструкції до активації, а також відновлення нормальної ультраструктури. Проте для повнішого уявлення про характер реакцій ультраструктур ЗН на метанол дослідження будуть продовжуватись.

Ключевые слова: зрительный нерв, глияльные клетки, нервные волокна, ультраструктура, метанол.

Ключові слова: зоровий нерв, гліальні клітини, нервові волокна, ультраструктура, метанол.

Алкоголь является одним из наиболее распространенных токсических веществ, оказывающих непосредственное влияние на нервную систему, а также существенно ухудшающих течение целого ряда патологических процессов [1, 3, 4]. В последнее время стали широко использовать метанол в качестве различных добавок к горючим веществам, на бензоколонках и др. В литературе представлено достаточное число сообщений об остром и хроническом влиянии алкоголя на организм и особенно, на ткани головного мозга человека и экспериментальных животных [3, 4, 5, 6]. Однако до сих пор остаются малоизученными более тонкие механизмы токсического действия алкоголя, в частности, метанола, на ткани головного мозга и особенно, нервные элементы глаза. В экспериментальной работе на макаках-резус выявлено, что при острой интоксикации метанолом на глазном дне возникает острая невритопатия, как правило переходящая в атрофию зрительного нерва (ЗН) [7].

Нами предприняты исследования по выяснению влияния различных доз метанола на ткани глаз крыс. В предыдущем сообщении описаны ультраструктурные изменения в хориоретинальном комплексе, вызванные малой дозой метанола [2].

Целью настоящего исследования явилось электронно-микроскопическое изучение изменений элементов ЗН крыс: глияльных клеток и нервных волокон (НВ), в динамике ответной реакции на введение метанола.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ. Работа выполнена на 20 взрослых крысах линии Вистар массой 250 — 300 г, разделенных на 2 группы: I-я — опытная, в которой крысам внутрибрюшинно, однократно вводили метанол из расчета

0,75 г/кг массы тела. Доза метанола подбиралась, согласуясь с публикацией [9]. II-я группа — контрольные животные, которым вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме. Изучался материал через 1, 7 и 14 суток после введения метанола. Исследовались глияльные клетки ЗН и НВ. Эвтаназия животных осуществлялась методом воздушной эмболии под рауш-наркозом в соответствии с «Требованиями биоэтики Хельсинской декларации об этическом регулировании медицинских исследований» [8]. Затем производились светооптическое и электронно-микроскопическое исследования материала. Для электронно-микроскопического исследования кусочки ткани фиксировались в 2,5 % растворе глутаральдегида на фосфатном буфере при значении pH — 7,4 с последующей дофиксацией 1 % раствором осмиевой кислоты при том же pH буферного раствора. Затем образцы обезвоживались в спиртах восходящей крепости и ацетоне. Пропитывание материала и его заключение производилось в смеси эпон-аралдит. Обзорные полутонкие препараты для светооптического исследования окрашивались 1 % раствором метиленового синего. Ультратонкие срезы контрастировались растворами уранилацетата и цитрата свинца. Просматривались и фотографировались объекты в электронном микроскопе ПЭМ-100-01.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ. Светооптически на полутонких препаратах материала опытной группы, в отличие от контрольной группы, во все сроки исследования нами отмечено просветление аксоплазмы и извилистость миєлиновых оболочек крупных НВ.

При электронно-микроскопическом исследовании через 1 сутки после введения метанола в ЗН определялись глияльные клетки с крупным ядром овальной формы, содержащим диффузный хроматин и ядрышко, располагающееся у кариолеммы.

Цитоплазма этих клеток занимала большую площадь, имела умеренно электронную плотность и содержала большое количество нейрофиламентов. В клетке присутствовали также типичные для этих клеток мембранные органеллы. Наиболее выраженным, альтеративным, изменениям подверглись митохондрии: часть их была с очаговым просветлением митохондриального матрикса и отсутствием крист, другие с их очаговой фрагментацией. В то же время наблюдались митохондрии с нормальной структурой и выявлялись мелкие округлые митохондрии с электронно-плотным матриксом, так называемые «молодые» митохондрии. Элементы зернистой эндоплазматической сети (ЗЭС) были расширены. Полисомы рассредоточены по всей цитоплазме, однако преимущественно их скопление отмечалось в области ЗЭС и митохондрий. Рядом с вышеописанными клетками определялись также глиальные клетки другого типа с большим, но более округлым ядром, иногда с изрезанной кариолеммой. Ядерный хроматин находился преимущественно в конденсированном состоянии. Ядро таких клеток окружено узким ободком цитоплазмы, в которой определялись единичные митохондрии и полисомы. НВ в этот срок были преимущественно в нормальном состоянии. Лишь в крупных НВ осевые цилиндры отличались просветлением аксоплазмы, набуханием митохондрий, разволокнением миелиновой оболочки (рис.1).

Через 7 суток в глиальных клетках были выявлены более глубокие деструктивные изменения в митохондриях и значительное расширение просвета элементов ЗЭС, по сравнению с наблюдавшимся в этих клетках через 1 сутки в после введения метанола. В то же время наблюдались глиальные клетки с признаками активации цитоплазматических структур. В крупных НВ оставались явления отека аксоплазмы и деформация миелиновой оболочки.

Через 14 суток признаки отека вышеописанных ультраструктур глиальных клеток уменьшались и нарастали признаки компенсаторно-восстановительного характера: обнаруживалось больше митохондрий с нормальной структурой, наблюдалось скопление элементов ЗЭС и полисом в околоядерной области. Здесь следует подробнее остановиться на реакции митохондрий. Часть из них, как уже указывалось, приобрела интактную структуру. Часть имела признаки альтерации: вакуолизацию внутримитохондриального матрикса, уменьшение числа крист, их укорочение. В то же время в цитоплазме глиальных клеток некоторое число этих органелл приобретало крупные размеры и отличалось скоплением крист на полюсах этих органелл с выраженным набуханием матрикса в центральной части. Такого рода изменения свидетельствуют об активном функционировании митохондрий в данных условиях. Встречались также

двуядерные глиальные клетки. Рядом выявлялись единичные клетки в состоянии глубокой альтерации. В крупных НВ оставался отек аксоплазмы. Среди миелиновых волокон с нормальной ультраструктурой определялись волокна со сморщенной аксоплазмой и деформацией миелиновых оболочек. Надо отметить, что деформация, извитость миелиновых оболочек НВ была наиболее характерной чертой их изменений. Аксоплазма большинства НВ была сравнительно электронно-плотной и в ней выделялись изменения митохондрий, практически аналогичные описанным в клетках глии (рис.2).

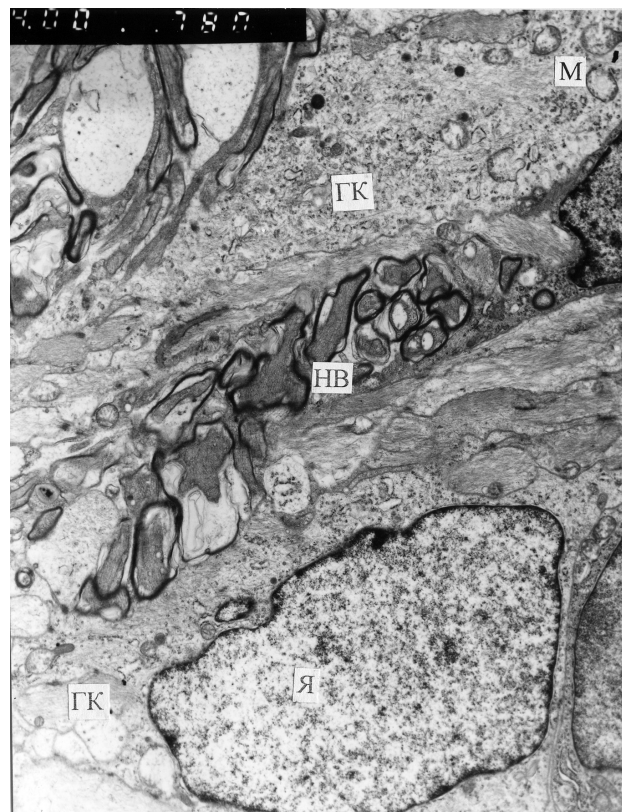


Рис. 1. Ультраструктура зрительного нерва крыс через 1 сутки после введения метанола. Глиальная клетка с крупным ядром и мелкими вакуолизированными митохондриями. Отек аксоплазмы крупных НВ. Электронная микрофотография. X 4 000.

Условные обозначения: ГЛ — глиальная клетка, М — митохондрия, НВ — нервное волокно, Я — ядро.

Анализ изученного материала показал, что в ЗН, в ответ на действие метанола, были наиболее выражены изменения НВ: на 1 — 7 сутки проявляющиеся отеком аксоплазмы, расслоением миелиновой оболочки, набуханием митохондрий. К 14 суткам признаки отека аксоплазмы уменьшались, однако наблюдалась резкая деформация миелиновой оболочки значительной части НВ, тогда как глиальные клетки оказались более устойчивыми к повреждающему фактору. В этих клетках отмечалась полиморфная реакция митохондрий: от частичной деструкции

до активации, а также восстановления нормальной ультраструктуры. Наряду с этими изменениями реактивного характера в глиальных клетках параллельно наблюдались компенсаторно-восстановительные: в виде усиления признаков белоксинтезирующей и энергообразующей деятельности.

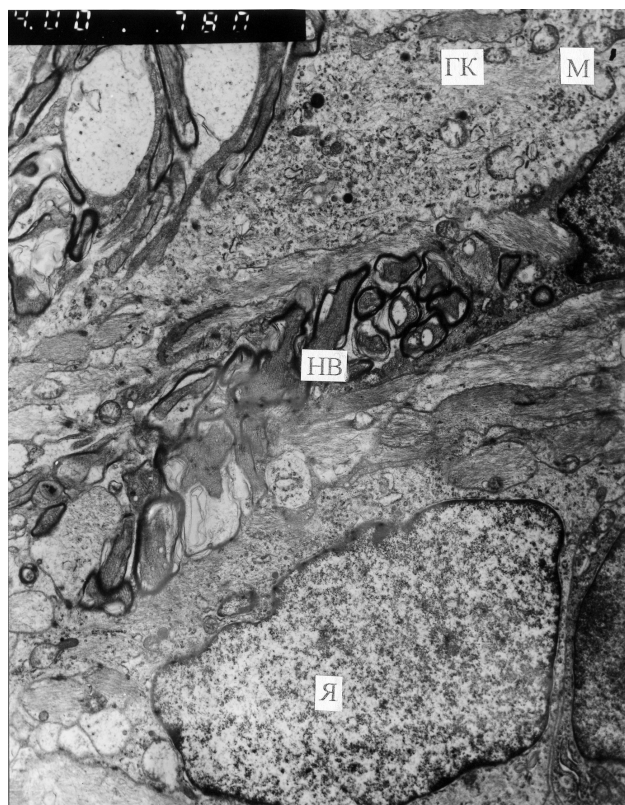


Рис. 2. Ультраструктура зрительного нерва крыс через 14 суток после введения метанола. Гигантские митохондрии с признаками внутримитохондриального набухания в цитоплазме глиальной клетки. Выраженная извитость миелиновых оболочек НВ, патология митохондрий в их аксонах. Электронная микрофотография. X 10 000.
Условные обозначения: ГК — глиальная клетка, М — митохондрия, НВ — нервное волокно.

Таким образом, установлено, что метанол в избранной сравнительно малой дозировке вызывает в ЗН реакцию со стороны НВ, в большей степени в их миелиновых оболочках, что, вероятно, влияет на качество проведения нервных импульсов. В аксонах НВ при этом происходит также ряд реактивных изменений, но важнейшим является наблюдаемая во все сроки реакция митохондрий. Причем эта реакция синхронна с тем, что происходит с митохондриями в глиальных клетках. Изменения глиальных клеток характеризуются признаками реактивных (в начальные сроки), а затем восстановительных процессов, что обуславливает трофику НВ. Полученные данные позволяют судить о некоторых сторонах действия метанола на нервные элементы ЗН. Однако для более полного представления о характере реакций структур ЗН на метанол требуется продолжение исследований по этой проблеме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Битенский В. С. // Журнал АМН Украины. — 2007. т. 13. — № 3. — С. 543-550.
2. Думброва Н. Е., Молчанюк Н. И. // Офтальм. журн. — 2009. — № 5. — С. 54 — 57.
3. Пауков В. С., Ерохин Ю. А. //Архив патологии. — 2004. — № 4. — С. 3 — 9.
4. Шорманов С. В. //Архив патологии. — 2006. — № 1. — С. 19 — 22
5. Шорманов С. В. //Архив патологии. — 2004. — № 4. — С. 9 — 13.
6. Шульпина Н. Б., Рожнов В. Е., Галиаскарова Ф. Р. // Вестник офтальмологии. — 1987. — № 1. — С. 62 — 65.
7. Baumbach G. L., Cancilla P. A., Martin-Amat G., Tephly T. R. et al. //Arch. Ophthalm. — 1977. — V. 95. — N 10. — P. 1859-1865.
8. Norman H. — J, 1985. //Хроника ВОЗ-1985. — Т.39, № 3. — С.3-9.
9. Rajamani R., Muthuvel A., Senthilvelan M., Sheeladevi R. //Toxicol Lett. — 2006. — N 5. — P. 12.

Поступила 22.12.2009.

Рецензент д-р мед. наук Э. В. Мальцев.

ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF THE RAT OPTIC NERVE ELEMENTS IN DYNAMICS AFTER THE INFLUENCE OF METHANOL

Dumbrova N. E., Molchanyuk N. I.

Odessa, Ukraine

The changes of the rat optic nerve were investigated in dynamics (1-14 days) photooptically and electron-microscopically after introduction of methyl alcohol in the dose of 0,75 g/kg of the body mass. It is established that nerve fibers react in the greatest degree to the action applied: on the 1-7 days is noted dropsy of axoplasm, exfoliations of myelin membranes, swelling of the mitochondria. On the 14th day sign of the swelling axoplasm reduced however is noted deformation of the myelin membranes. In the glial cell is noted both partial destruction and restoration of the normal structure. The study will be continued.