

HEMODYNAMICS OF THE RABBIT BRAIN IN ELECTROSTIMULATION  
OF THE PERIPHERAL SECTION OF THE VISUAL ANALYZER

V. S. Ponomarchuk, G. M. Lavrenko, D. M. Pikhiteev, T. V. Gladkiy, V. I. Ivanov

Odessa, Ukraine

There was investigated the influence of transcutaneous electrostimulation of the peripheral section of the visual analyzer (phosphene — electrical stimulation) on the hemodynamics of the rabbit brain. A single session increased the level of pulse blood supply to the cerebral vessels by 100%; these changes lasted for 60 min. The course influence increased the blood supply of the brain and central artery of the retina by 25%.

It is shown that under the influence of phosphene- electrical stimulation current of 100 mcA and 300 mcA the magnocellular cells of the supraoptic nuclei of the front hypothalamus of rabbits are noted to have the dose independent increase of the number of neurons in the phase of rest after the removal of neurosecretion; it indicates the activation of the secretory activity of neurocytes. Thus, the neurohumoral mechanism participates in the realization of the vasoactive effect of phosphene — electrical stimulation.



УДК 617.735+547.261-092.4

УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ НЕРВНЫХ СТРУКТУР ГАНГЛИОЗНОГО СЛОЯ СЕТЧАТКИ  
КРЫС В ДИНАМИКЕ ПОСЛЕ ДЕЙСТВИЯ МЕТАНОЛА

**Н. И. Молчанюк**, канд. биол. наук, **Н. Е. Думброва**, проф., д-р мед. наук

ГУ»Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова АМН Украины», г. Одесса

*Світлооптично і електронно-мікроскопічно вивчалися зміни гангліозних клітин (ГК) і відростків мюллерівських клітин (ВМЮК) гангліозного шару сітківки щурів в динаміці (1–14 діб) у відповідь на однократне введення метанолу в дозі 0,75 г/кг маси тіла.*

*У відповідь на токсичну дію метанолу в ГК у динаміці спостерігалось наростання деструктивних змін внутрішньоклітинних структур. У ВМЮК також проявлялись однонаправлені зміни, але в меншій мірі. Слід підкреслити, що вже в ранні терміни (1 доба) в мілких ГК відмічались значні явища альтерації ультраструктур. Однонаправлені зміни також спостерігались в контактуючих з ними ВМЮК. Для отримання повнішого уявлення про характер змін нервових структур ока під впливом метанолу дослідження продовжуватимуться.*

**Ключевые слова:** сетчатка, ультраструктура, ганглиозные клетки, мюллеровские клетки, метанол

**Ключові слова:** сітківка, ультраструктура, гангліозні клітини, мюллеровські клітини, метанол

**Введение.** Алкоголизм является серьезной проблемой человечества [1].

Злоупотребление спиртными напитками в больших дозах или при постоянном их употреблении приводит к развитию различной патологии и ухудшает течение целого ряда патологических процессов [3, 4, 6]. По данным ряда авторов, одним из наиболее уязвимых органов для действия этилового спирта является головной мозг, в частности его нервные клетки (НК) [4, 5, 6, 7, 9]. Кроме того, хроническое употребление алкоголя приводит к поражению кровеносных сосудов мозга, что также усугубляет течение дистрофического процесса в НК [4, 5]. Однако до сих пор остаются малоизученными более тонкие механизмы токсического действия алкоголя, в частности, метанола, на ткани головного мозга и особенно, нервные элементы глаза. Биохимические исследования на экспериментальных животных показали, что ме-

танол быстро всасывается из пищеварительного тракта, медленно выводится из организма. Муравьиная кислота и ионы формианта, образующиеся в результате расщепления метанола, действуют как ферментативный яд, блокируя SH-группы опсина [6]. Другими исследователями выявлено в опытах на макаках-резус, что при острой интоксикации метанолом, у них на глазном дне возникает острая нейропатия [10]. Нами предприняты исследования по изучению влияния различных доз метанола на ткани глаз крыс. В предыдущем сообщении описаны ультраструктурные изменения в хориоретинальном комплексе, вызванные небольшой дозой метанола [2].

**Целью настоящего исследования** явилось электронно-микроскопическое изучение изменений ганглиозных клеток (ГК) и отростков мюлле-

ровских клеток (ОМЮК) ганглиозного слоя сетчатки крыс в динамике ответной реакции на введение небольшой дозы метанола.

**МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Работа выполнена на 20 взрослых крысах линии Вистар массой 250–300 г, разделенных на две группы: I — опытная, в которой крысам внутривенно, однократно вводили метанол из расчета 0,75 г/кг массы тела. Доза метанола подбиралась, в соответствии с имеющимися публикациями [9]. II группа — контрольные животные, которым в эквивалентном объеме вводили физиологический раствор. Изучение материала проводилось через 1, 3 и 14 суток после введения метанола. Исследовались структуры ГК и ОМЮК ганглиозного слоя сетчатки. Эвтаназия животных осуществлялась методом воздушной эмболии под рауш-наркозом в соответствии с «Требованиями биоэтики Хельсинской декларации об этическом регулировании медицинских исследований» [8]. Затем проводилось светооптическое и электронно-микроскопическое исследование 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 обезжировались в спиртах восходящей крепости и ацетоне и проводилось пропитывание и заключение материала в смесь 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 И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.** Светооптически на полутонких препаратах в слое ГК, во все сроки исследования материала, в отличие от материала контрольной группы, нами выявлено лишь просветление цитоплазмы мелких ГК.

При электронно-микроскопическом исследовании через 1 сутки после введения метанола наблюдались неоднородные изменения ГК: среди крупных ГК часть клеток была с увеличенным числом цитоплазматических структур, другая часть — с очаговым просветлением цитоплазмы и умеренным количеством органелл, преимущественно на периферии клетки. В этих ГК отмечались явления альтерации части митохондрий. Выявляемые в данном слое мелкие ГК подвергались значительным внутриклеточным деструктивным изменениям, которые проявлялись практически полным разрушением или опустошением органелл. В ОМЮК в этот срок изменения касались лишь митохондрий, в них определялись просветление митохондриального матрикса и очаговая деструкция крист. Однако в тех ОМЮК, которые контактировали с мелкими ГК, проявлялись признаки отека цитоплазмы и отмечалось расширение элементов гладкой эндоплазматической сети (Рис. 1).

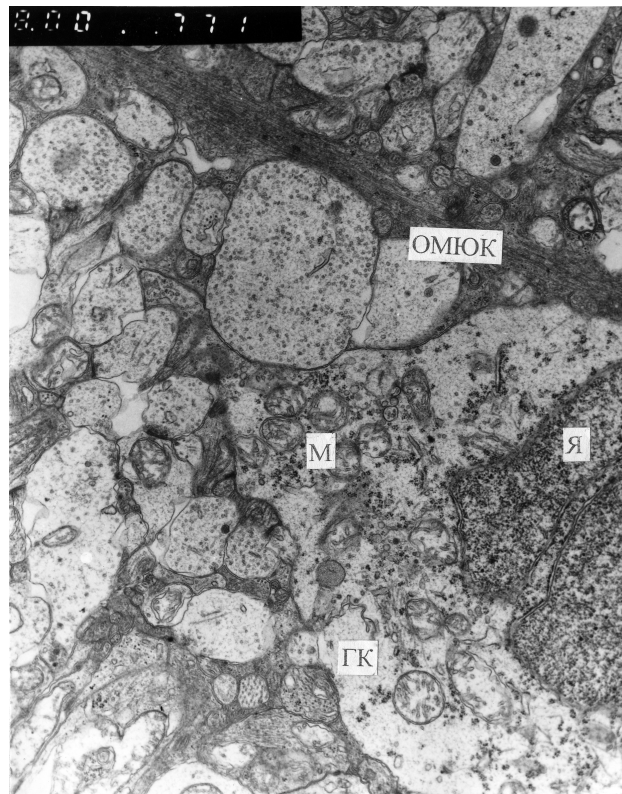


Рис. 1. Ультраструктура нервных элементов слоя ганглиозных клеток через 1 сутки после введения метанола. Цитоплазма ГК с большим количеством белоксинтезирующих органелл и ядром, содержащим выраженные поры в ядерной мембране. Отечные и опустошенные ОМЮК, прилегающие к плазматической мембране ГК

Электронная микрофотография. X 8 000.

Условные обозначения: ГК — ганглиозная клетка, Я — ядро, ОМЮК — отросток мюллеровской клетки, ЗЭС — зернистая эндоплазматическая сеть, П — полисомы.

Спустя 3 суток в крупных ГК оставался тот же характер изменений, который отмечался в предыдущем сроке. Однако наблюдалось меньше клеток с признаками активации деятельности цитоплазматических элементов и в большей степени в клетках проявлялась альтерация митохондрий, а также присоединялось расширение элементов зернистой эндоплазматической сети (ЗЭС) с уменьшением рибосом на их мембранах. Состояние мелких ГК и ОМЮК не отличалось от такового, описанного в предыдущем сроке.

Спустя 14 суток к наблюдавшимся изменениям в мелких ГК добавлялись изменения в крупных ГК. Отмечались явления отека цитоплазмы и деструкция цитоплазматических органелл. Только в околоядерной области этих клеток выявлялись единичные элементы ЗЭС с дегрануляцией и расширением их профилей, а также наблюдались вакуолизированные митохондрии с деформацией наружной мембраны. В цитоплазме появлялись миелоноподобные тельца и обрывки мембран. Периферия клеток была полностью опустошена. ОМЮК, окружаю-

щие ГК, были в значительной степени изменены, определялись признаки истощения. В них отмечалось просветление цитоплазматического матрикса и значительное уменьшение числа органелл. В сохранившихся митохондриях наблюдалась деструкция или выраженная вакуолизация, отмечалось исчезновение фибриллярных компонентов. В то же время часть ОМЮК имела структуру близкую к нормальной или с выраженными компенсаторно-восстановительными процессами (Рис. 2).

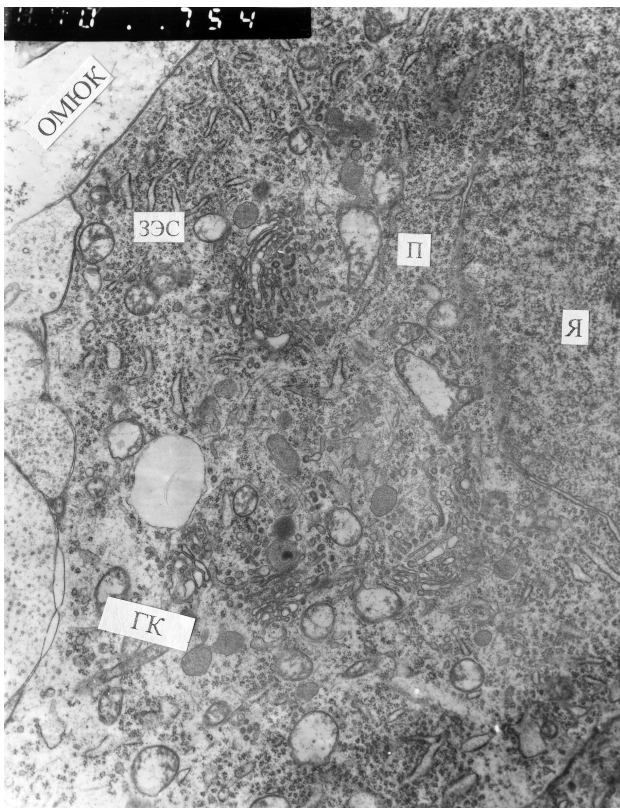


Рис. 2. Ультраструктура нервных элементов слоя ганглиозных клеток через 14 суток после введения метанола. Отек цитоплазматического матрикса ГК с резким уменьшением числа органелл и фрагмент дольчатого ядра.

Электронная микрофотография. X 8 000.

Условные обозначения: ГК — ганглиозная клетка, Я — ядро. ОМЮК — отросток мюллеровской клетки.

Необходимо также отметить, что у некоторых животных вышеописанные изменения в изучаемых элементах слоя ГК были более выраженными, что, очевидно, связано с индивидуальной восприимчи-

востью крыс к токсическому действию метанола, а также с тем, в каком функциональном состоянии они в тот момент находились.

Анализ результатов исследования показал, что в ответ на токсическое действие метанола (в динамике от 1 до 14 суток после его введения) в ГК наблюдалось нарастание деструктивных изменений внутриклеточных структур. В ОМЮК также проявлялись однонаправленные изменения, но выраженные в значительно меньшей степени. Следует подчеркнуть, что уже в ранние сроки (1 сутки) в мелких ГК отмечались значительные явления альтерации ультраструктур. Однонаправленные изменения также наблюдались в контактирующих с ними ОМЮК.

Таким образом, нами показано, что даже в сравнительно небольшой дозе метанол оказывал токсическое действие, вызывая целый ряд изменений ультраструктуры ГК и ОМЮК. Для получения более полного представления о характере изменений нервных структур глаза под влиянием метанола исследования будут продолжаться.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Битенский В. С. Роль алкоголизма и наркоманий в демографическом кризисе в Украине // 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. Шутьпина 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.
10. Sekkart A. et al. // J. franc. ophthalm. — 1952. — Vol.12. — P. 797–804.

Поступила 22.12.2009

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

**ULTRASTRUCTURAL CHANGES IN THE NERVOUS STRUCTURES OF THE RETINAL GANGLIONIC LAYER OF RATS IN THE DYNAMICS AFTER METHANOL INFLUENCE**

N. I. Molchanyuk, N. E. Dumbrova

Odessa, Ukraine

Changes in the ganglionic cells (GC) and processes of the Mullerian cells (PMUC) of the retinal ganglionic layer of rats were studied photo-optically and electron-microscopically in the dynamics (1–14 days) in response to the single introduction of methanol in the dose of 0.75 g/kg of the body mass.

It is revealed that in response to the toxic effect of methanol in GC the increase of destructive changes in the intracellular structures in dynamics was observed. In PMUC there were also manifested unidirectional changes but they were expressed to a considerably lesser degree. It is necessary to emphasize that already in the early period (first 24 hrs) significant phenomena of the alteration of the ultrastructures in the small GC were noted, which were also characteristic of PMUC. For obtaining more complete ideas about the nature of changes in the nervous structures of the eye under the effect of methanol the experiment will be continued.



УДК 617.713–001.4–003.92–089.84

**КІЛЬКІСНА ОЦІНКА ОСОБЛИВОСТЕЙ ФОРМУВАННЯ ПОСТТРАВМАТИЧНОГО РУБЦЯ РОГІВКИ ВНАСЛІДОК ПРОНИКАЮЧИХ ПОРАНЕНЬ РОГІВКИ**

**Н. Ф. Боброва**, д. м. н., проф., **В. І. Шевчик**, аспірант

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова АМН України»

*Проведено сравнение особенностей формирования посттравматического рубца роговицы у кроликов, в зависимости от способа проведения первичной хирургической обработки (ПХО) проникающего ранения роговицы. Исследование проведено на 6 глазах у 3 кроликов, которым наносилось стандартное (6мм) проникающее ранение роговицы, при этом рана роговицы правого глаза ушивалась сквозными швами, а левого — на 2/3 толщины роговицы. Сопоставлялись значения коэффициента, который рассчитывался как отношение длины рубца роговицы к его площади, на 30 день после травмы и ПХО. Установлено, что предложенный коэффициент при ПХО с наложением сквозных роговичных швов составлял 0,062–0,064, а при наложении швов на 2/3 толщины роговичной раны — 0,0060–0,0064, что свидетельствует о формировании меньшего по площади рубца роговицы при проведении ПХО с использованием сквозных швов.*

**Ключові слова:** проникаюче рогівкове поранення, первинна хірургічна обробка, рубець рогівки

**Ключевые слова:** проникающее ранение роговицы, первичная хирургическая обработка, рубец роговицы

Кількісно оцінити переваги того чи іншого способу первинної хірургічної обробки (ПХО) проникаючих поранень рогівки важко, оскільки в кожному випадку рана є індивідуальною як по довжині, так і по локалізації. Дані кератотопометрії є лише відносними, оскільки вони залежать не лише від якості проведеного хірургічного втручання, а і від локалізації та довжини рани рогівки.

**Мета.** Розробити метод кількісної оцінки особливостей формування посттравматичного рубця рогівки внаслідок проникаючих поранень рогівки в залежності від способу ПХО.

**МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Для можливості кількісної оцінки особливостей формування посттравматичного рубця рогівки різної довжини та форми нами запропоновано ввести коефіцієнт, що буде визначатися відношенням довжини рубця до його площі.

Експериментальним тваринам, на базі віварію ДУ «Інституту очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова

АМН України», кроликам породи шиншила масою 2–3,5 кг на обох очах за допомогою розробленого нами пристрою (Патент України № 40150 від 25.03.2009) наносилась стандартна — 6 мм довжиною лінійна рана рогівки з різано — рваними краями по розробленій нами методиці (Патент України № 40227 від 25.03.09). Наскрізна рогівкова рана ушивалась за допомогою вузлуватих швів з нейлону 10/00, якими прошивалась вся товщина рогівки на правих очах, а на лівих — аналогічними швами, тільки на 2/3 її товщини, залишаючи неушкоджену задню третину країв рани.

Рогівку тварин через місяць після травми та ПХО фотографували цифровим фотоапаратом в умовах освітлення щільної лампи при погляді прямо (мал. 1). Потім фотографії переносили в базу даних комп'ютера (мал. 2). Методика визначення коефіцієнту полягала в наступному: площа рубця та його довжина визначались у пікселях за допомогою графічних редакторів, після чого довжину рубця ділили на його площу.

© Н. Ф. Боброва, В. І. Шевчик, 2010