

Зміни активності мітохондріальних ферментів та вмісту АТФ у зоровій корі щурів за умов метанолової інтоксикації

Молчанюк Н. І., Михейцева І. М.

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

Актуальність. Отруєнням метанолом залишаються однією з найбільш небезпечних форм екзогенних інтоксикацій, що супроводжуються вибіркоvim ураженням структур зорового аналізатора. Ключовим молекулярним механізмом цитотоксичної дії метанолу та його метаболіту — мурашиної кислоти — є інгібування мітохондріального дихального ланцюга, зокрема блокада комплексу IV (цитохромоксидази), що призводить до порушення спряженості окисного фосфорилування та енергетичного дефіциту клітин. Зорова кора (ЗК) як кінцева ланка зорового аналізатора характеризується надзвичайно високим рівнем метаболічної активності та критичною залежністю від аеробного енергозабезпечення, що робить її особливо вразливою до мітохондріальної дисфункції.

Незважаючи на достатню вивченість клінічних проявів метанолової інтоксикації, біохімічні зміни безпосередньо у ЗК досліджені фрагментарно. Більшість існуючих робіт зосереджені на патології сітківки та зорового нерва, тоді як стан ензиматичної ланки мітохондріального метаболізму у ЗК в динаміці інтоксикації потребує поглибленого вивчення.

Мета. Оцінити зміни активності ключових мітохондріальних ферментів (цитохромоксидази і сукцинатдегідрогенази) та вмісту аденозинтрифосфату (АТФ) у ЗК щурів в динаміці після внутрішньоочеревинного введення (ВВ) метанолу.

Матеріал і методи. Робота виконана на 37 дорослих білих щурах лінії Вістар масою від 220 г до 310 г, підрозділених на 2 групи: I-а – піддослідна, щурам одноразово виконували ВВ 100 % метанолу з дозою метанолу 0,75 г/кг маси тіла щура; II-а – контрольна, проводили ВВ фізіологічного розчину інтактним щурам в об'ємі, що і метилового спирту. Ефект ЛД₅₀ при ВВ метанолу складає 9,5 г/кг маси тіла щура. ВВ речовин щурам та їх евтаназія здійснювались відповідно до міжнародних правил по біоетиці (Страсбург, 1986).

Результати. Встановлено, що ВВ 100% метанолу в дозі 0,75 г/кг маси тіла спричиняє суттєве пригнічення активності ферментів мітохондріального дихального ланцюга у ЗК щурів починаючи з першої години інтоксикації. Активність цитохромоксидази — термінального ферменту електронтранспортного ланцюга, відповідального за перенесення електронів на молекулярний кисень, — знижувалася вже через 24 години на 30,5% порівняно з нормою. Максимальне пригнічення цього ферменту зареєстровано на 7 добу спостереження, коли зниження його активності сягало 47,4%. До 3 місяців експерименту відзначено часткове відновлення активності цитохромоксидази, проте її рівень залишався зниженим на 29,6% відносно контрольних значень.

Аналогічну динаміку демонструвала активність сукцинатдегідрогенази — ферменту, що каталізує окислення сукцинату до фумарату в циклі трикарбонових кислот і водночас є інтегральним компонентом комплексу II дихального ланцюга мітохондрій. Зниження активності цього ферменту у ЗК становило 35,8% через 24 години, досягало максимуму на 7 добу — 51,4%, а через 3 місяці зберігалось на рівні 33,7% нижче від нормативних показників. Більш значне пригнічення сукцинатдегідрогенази порівняно з цитохромоксидазою на всіх строках спостереження свідчить про глибоке порушення не лише термінальної, а й проміжної ланок мітохондріального окислення, що може бути пов'язане з додатковим ушкодженням ферментів циклу Кребса під впливом метаболітів метанолу.

Закономірним наслідком пригнічення ензиматичної активності дихального ланцюга було зниження вмісту АТФ у ЗК. Рівень АТФ зменшувався на 25,7% через 24 години, на 34,4% на 7 добу та залишався зниженим на 29,8% через 3 місяці після інтоксикації. Дефіцит АТФ такого масштабує критичним для нервової тканини, оскільки порушує роботу іонних насосів, процеси синаптичної передачі, аксонального транспорту та підтримання мембранного потенціалу нейронів.

Нами виявлена спільна динаміка всіх досліджуваних показників: наростання порушень від 24 годин до 7 доби з подальшою тенденцією до часткового відновлення на 3 місяць експерименту.

Зростання рівня АТФ та активності мітохондріальних ферментів у пізні строки спостереження може свідчити про активацію компенсаторних механізмів енергетичного метаболізму та часткову корекцію метаболічного ацидозу, спричиненого накопиченням мурашиної кислоти. Водночас неповне відновлення біохімічних показників навіть через 3 місяці вказує на формування стійкої мітохондріальної дисфункції у нейронах ЗК, що корелює з виявленими нами раніше ультраструктурними змінами цих клітин.

Висновок. ВВ метанолу в дозі 0,75 г/кг маси тіла спричиняє значне пригнічення активності цитохромоксидази та сукцинатдегідрогенази у ЗК щурів із максимальним зниженням на 7 добу (на 47,4% та 51,4% відповідно), що свідчить про глибоке порушення функціонування дихального ланцюга мітохондрій. Дефіцит АТФ у ЗК, що досягає 34,4% на 7 добу спостереження, є закономірним наслідком ензиматичної дисфункції та створює передумови для розвитку незворотних деструктивних змін нервових клітин. Часткове відновлення біохімічних показників через 3 місяці експерименту відображає активацію компенсаторних механізмів, проте збереження дефіциту на рівні 29–34% свідчить про стійкий характер мітохондріальної дисфункції у кіркових структурах зорового аналізатора. Отримані дані розкривають біохімічне підґрунтя ультраструктурних ушкоджень ЗК (досліджуваних нами раніше) при метаноловій інтоксикації та обґрунтовують доцільність застосування мітохондріально-спрямованих засобів метаболічної корекції у комплексній терапії отруєнь метанолом.

Alterations in Mitochondrial Enzyme Activity and ATP Content in the Rat Visual Cortex Following Methanol Intoxication.

Molchaniuk NI, Mikheyetseva IM

Odesa, Ukrain

The dynamics of changes in the activity of key mitochondrial respiratory chain enzymes — cytochrome oxidase and succinate dehydrogenase — as well as adenosine triphosphate (ATP) content in the visual cortex (VC) of Wistar rats were investigated following a single intraperitoneal administration of 100% methanol at a dose of 0.75 g/kg body weight. Biochemical parameters were assessed at 24 hours, 7 days, and 3 months after intoxication. A statistically significant decrease in cytochrome oxidase activity of 30.5%, 47.4%, and 29.6% was revealed at the respective time points of observation. Succinate dehydrogenase activity was reduced even more markedly — by 35.8%, 51.4%, and 33.7%. ATP content in the VC decreased by 25.7%, 34.4%,

and 29.8%, respectively. The maximum suppression of all investigated parameters was recorded at day 7 of the experiment. Partial recovery of enzymatic activity and ATP levels by 3 months indicates the activation of compensatory mechanisms of energy metabolism; however, a persistent deficit at the level of 29–34% points to the development of chronic mitochondrial dysfunction in VC neurons. The results reveal the biochemical basis of ultrastructural damage to the VC in methanol-induced neurop

Динаміка ультраструктурних змін в зовнішніх шарах зорової кори щурів, викликаних метаноловою інтоксикацією

Молчанюк Н. І.

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

Актуальність. З часом все більше з'являється випадків отруєнь сурогатами алкоголю з вмістом метанолу як в Україні, так і за її межами. Відомо, що після його вживання в перші 2 - 3 доби у постраждалих різко знижується гострота зору або відбувається повна його втрата, якщо постраждалі несвоєчасно звернулися за медичною допомогою. Клінічні дослідження показали, що при гострому отруєнні даними сурогатами первинно вражаються тканини ока та головного мозку. Нами раніше вивчався вплив метанолу в незначній дозі на структури сітківки та зорового нерву очей щурів. Наразі в наукових джерелах відсутні відомості стосовно його впливу на тканини зорової кори (ЗК). Отримані результати комплексного дослідження структур: хоріоїдея - зорова кора дозволять зрозуміти тонкі механізми розвитку патологічних процесів, викликаних токсичною дією метанолу у постраждалих, які вживали сурогати алкоголю, з вмістом метанолу, та будуть слугувати підґрунтям для розробки патогенетично обґрунтованих підходів до лікування метаноловою інтоксикації.

Мета. Вивчити ультраструктурні зміни в зовнішніх шарах ЗК щурів в динаміці спостереження після внутрішньоочеревинної ін'єкції (ВІ) незначної дози метанолу.

Матеріал і методи. Дослідження проведено на 12 дорослих білих щурах лінії Вістар масою від 250 г до 300 г, розділених на 2 групи: I-a – піддослідна, в якій щурам одноразово виконували ВІ