

УДК: 611.83+616.833-002.1-092.9

Якушко О.С.

СТРУКТУРНИЙ ТА МОРФОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ НЕРВОВИХ ВОЛОКОН ЗОРОВОГО НЕРВА ЩУРІВ ПРИ ГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ НЕВРИТІ

ВДНЗУ „Українська медична стоматологічна академія”, м. Полтава, Україна

Метою дослідження було вивчення ультраструктурних особливостей нервових волокон зорового нерва щурів та їх морфометричний аналіз при гострому експериментальному запаленні. Дослідження проведено на 55 статевозрілих щурах-самцях лінії „Вістар”, які були поділені на дві групи: I група – інтактна (10 щурів), II група (45 щурів), яким одноразово внутрішньоочередово вводили λ -карагінен (5 мг в 1 мл фізіологічного розчину). Найбільш виражені прояви запальної реакції з боку нервових волокон спостерігались на 5-у добу дослідження. Мієлінові оболонки нервових волокон були розшаровані, їх контури нерівні, осьові циліндри потовщені, в аксоплазмі спостерігались набряклі мітохондрії, мікротрубочки та нейрофіламенти незмінні. До 30-ї доби спостереження ультраструктура більшості нервових волокон не відновилась, зменшилась їх щільність концентрації на одиницю площі.

Ключові слова: зоровий нерв, нервові волокна, експериментальний неврит.

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи ВДНЗ України „Українська медична стоматологічна академія” МОЗ України „Експериментально-морфологічне вивчення дії трансплантатів кріоконсервованої плаценти на морфофункціональний стан ряду внутрішніх органів” (№ державної реєстрації 0108U001572).

В Україні захворюваність ока та його придатків становить 12,3 на 10 тис. населення, в тому числі запальні захворювання – 11,2; сітківки та зорового нерва – 24,7. Останні посідають одне з провідних місць серед причин незворотної втрати зору [2, 11]. Даний факт ставить дослідження цієї проблеми в ряд важливих задач офтальмології та морфології. Для пошуку сучасних методів терапії невритів зорового нерва необхідне досконале вивчення динаміки перебігу запального процесу в зоровому нерві на світлооптичному та ультрамікроскопічному рівні.

Мета дослідження

Вивчення ультраструктурних особливостей нервових волокон зорового нерва щурів та їх морфометричний аналіз при гострому експериментальному запаленні.

Матеріал та методи дослідження

Робота виконана на 55 статевозрілих щурах-самцях лінії „Вістар”. При роботі з тваринами керувались загальними етичними принципами роботи з експериментальними тваринами, Законом України „Про захист тварин від жорсткого поводження”, положеннями „Етичного кодексу лікаря України” і Гельсінською декларацією про гуманне відношення до тварин [3, 4]. Об'єктом дослідження була ретробульбарна частина зорового нерва щурів. Тварини були розподілені на групи: I група – інтактна (10 щурів), II група (45 щурів) – тваринам одноразово внутрішньоочередово вводили λ -карагінен (5 мг в 1 мл фізіологічного розчину) [8, 10]. Евтаназію тварин проводили шляхом передозування тіопенталового наркозу на 1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 21 та 30 добу експерименту. Отриманий матеріал фіксували в 2,5 % розчині глютарового альдегіду протягом 4 діб при температурі +4°C, після відмивання у фосфатному буфері обробляли згідно правил, прийнятих в електронній мікроскопії, та заключали в

ЕПОН-812 [5]. На ультрамікротомі “Selmi” УМТП-7 виготовляли напівтонкі зрізи, які забарвлювали 0,1% розчином толуїдинового синього [12] та поліхромним методом [8]. Для проведення морфометричного аналізу з отриманих епоксидних блоків виготовляли серії напівтонких зрізів. Морфометричні виміри проводили за допомогою світлового мікроскопа “Carl Zeiss” та окулярмікрометра МОВ-1-15^х. Площа поперечного перерізу нервових волокон визначалася на фотокартках форматом А4, зроблених з мікрофотографій, отриманих на цифровому мікроскопі фірми “Olympus” С 3040-ADU при збільшенні мікроскопа $\times 1000$ [7]. Беручи до уваги, що нервове волокно на поперечному розрізі має форму еліпса, за допомогою філателістичної лінійки вимірювали його малу та велику півосі. Площу поперечного перерізу підраховували за формулою: $S = \pi ab$, де a – довжина великої півосі; b – довжина малої півосі. Щільність розташування нервових волокон (кількість поперечних перерізів на одиницю площі) у зоровому нерві визначали на цих же фотокартках методом стандартних площин (на площі 900 μm^2), використовуючи планіметричну сітку за Г. Г. Автандиловим [1]. З частини матеріалу шляхом прицільного мікротомування на ультрамікротомі УМТП-7 отримували ультратонкі зрізи, монтували їх на паладієві сітки та контрастували спочатку насиченим водним розчином ураніацетату [14], а потім розчином цитрату свинцю за Reynolds [13]. Ультраструктуру нервових волокон вивчали за допомогою електронного мікроскопа МБР-100Л при прискорюючій напрузі 50-75 кВт. Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програми Excel [6].

Результати дослідження та їх обговорення

При вивченні напівтонких поперечних перерізів зорових нервів інтактних щурів встановлені

но, що нервові волокна були округлої або овальної форми, оточені добре вираженою мієліновою оболонкою. Діаметр нервових волокон зорового нерва становив в середньому $1,98 \pm 0,07$ мкм, площа поперечного перерізу – $3,55 \pm 0,29$ мкм². Щільність концентрації нервових волокон на одиницю площі (у нашому випадку на 900 мкм²) – $70,00 \pm 1,43$. Нервові волокна дрібного калібру, з площею поперечного перерізу меншою за 3 мкм², спостерігались в 56% від загальної кількості. Нервові волокна середнього калібру, з площею поперечного перерізу від 3 до 7 мкм², складала 30%. Нервові волокна великого калібру, з площею поперечного перерізу більшою за 7 мкм², становили 14%. Відсоткове співвідношення волокон різного калібру в зоровому нерві було подібне у його різних ділянках (по краях та в центрі). Серед тонких нервових волокон 16% від загальної кількості становили волокна з площею поперечного перерізу $1,77$ мкм², по 12% припадало на нервові волокна з площею поперечного перерізу $1,23$ мкм² та $2,4$ мкм². У групі нервових волокон середнього калібру 9% від загальної кількості припадало на волокна з площею перерізу $3,97$ мкм², по 6% – на волокна з площею перерізу $4,91$ мкм² та $5,94$ мкм². Серед нервових волокон великого калібру групи волокон з різною площею поперечного перерізу зустрічалися з частотою 1-2 %.

При дослідженні напівтонких поперечних перерізів зорових нервів щурів через 24 години після змодельованого асептичного запалення було виявлено, що середня площа поперечного перерізу нервових волокон становила $4,09 \pm 0,27$ мкм², їх щільність розташування – $71,70 \pm 1,74$. Ці показники не мали вірогідної різниці з показниками інтактної групи.

Змінилось відсоткове співвідношення площі поперечного перерізу нервових волокон різного калібру в зорових нервах щурів за рахунок незначного зсуву в бік волокон з більшою площею поперечного перерізу. Дрібних волокон було 42%, середніх – 43%, великих – 15% від загальної кількості. Серед дрібних волокон в 9% від загальної кількості зустрічалися волокна з площею поперечного перерізу $1,23$ мкм², в 6% – з площею поперечного перерізу $2,4$ мкм². У групі нервових волокон середнього калібру по 5% від загальної кількості припадало на волокна з площею перерізу $3,93$ мкм² та $4,42$ мкм². Волокна великого калібру з різною площею поперечного перерізу зустрічалися в 1-3 % від загальної кількості. На поперечних перерізах нервові волокна мали округлу форму, оточені мієліновою оболонкою.

При світловій мікроскопії напівтонких зрізів зорового нерва щура на 2-у добу дослідження виявлено, що більшість нервових волокон мали округлу форму, були вкриті мієліновою оболонкою. Середня площа поперечного перерізу становила $4,33 \pm 0,25$ мкм², що в 1,2 рази ($p < 0,05$) більше за інтактну групу. Зменшилось відсотко-

ве співвідношення кількості нервових волокон дрібного калібру з площею поперечного перерізу меншою 3 мкм². Їх нараховувалось 29%. Волокон середнього калібру (з площею поперечного перерізу від 3 до 7 мкм²) було 55%, волокон великого калібру (з площею поперечного перерізу більшою 7 мкм²) – 16%. У групі волокон дрібного калібру 8% від загальної кількості становили волокна з площею поперечного перерізу $1,77$ мкм², 5% – з площею поперечного перерізу $1,23$ мкм². Серед волокон середнього калібру в 11% зустрічалися волокна з площею поперечного перерізу $3,53$ мкм², в 5% – з площею поперечного перерізу $4,91$ мкм² та в 7% – з площею поперечного перерізу $5,89$ мкм². Волокна з площею поперечного перерізу $7,65$ мкм² становили 4% від волокон великого калібру. Щільність розташування нервових волокон на 900 мкм² – $73,4 \pm 1,91$.

Третя доба перебігу гострого асептичного неврити зорового нерва характеризувалась подальшим наростанням явищ запального характеру.

Значна кількість нервових волокон мала округлу форму і була вкрита мієліновою оболонкою. Деякі з них були неправильної форми. Середня площа поперечного перерізу становила $7,88 \pm 0,60$ мкм², що в 1,8 рази ($p < 0,001$) більше в порівнянні з попереднім терміном та в 2,2 рази ($p < 0,001$) у порівнянні з інтактом. Щільність розташування нервових волокон становила $67,50 \pm 1,71$, достовірно не відрізнялася від такої в групі інтактних тварин. Помітним було збільшення відсоткового співвідношення волокон з середнім та великим калібром. Так, 17% від загальної кількості становили волокна з площею поперечного перерізу меншою 3 мкм², 44% – з площею поперечного перерізу 3-7 мкм², 39% – з площею поперечного перерізу більшою 7 мкм². Розподіливши волокна на групи, визначили, що серед волокон дрібного калібру зустрічалися із площею поперечного перерізу $1,72$ мкм² – 3% та $2,4$ мкм² – 4% від загальної кількості. У групі з середнім калібром нервових волокон 5% припадало на волокна з площею поперечного перерізу $3,53$ мкм², 6% – з площею поперечного перерізу $5,94$ мкм², 8% – з площею поперечного перерізу $4,91$ мкм². Серед волокон великого калібру групи з різною площею поперечного перерізу зустрічалися в 1-3% випадків від загальної кількості.

На п'яту добу експериментального неврити значних змін зазнали нервові волокна. При світловій мікроскопії вони мали овальну або округлу форму, траплялися з неправильною формою. Були виявлені нервові волокна з великою площею поперечного перерізу у вигляді великих вакуоль в результаті набряку осьового циліндра, стоншення мієлінової оболонки.

Середня площа поперечного перерізу нервових волокон досягла найбільшого значення та становила $10,56 \pm 0,95$ мкм², що в 3 рази ($p < 0,001$) більше в порівнянні з інтактною групою та в 1,3 рази ($p < 0,05$) більше, ніж у попередній

термін спостереження. Щільність концентрації нервових волокон на 900 мкм^2 становила $59,00 \pm 1,07$, що в 1,2 рази ($p < 0,001$) менше в порівнянні з групою інтактних тварин та в 1,14 рази ($p < 0,001$) – із попереднім терміном спостереження. 57% від загальної кількості становили волокна великого калібру, 30% – середнього та 13% – дрібного калібру. Серед волокон дрібного калібру групи з різною площею поперечного перерізу зустрічалися в 1-3% випадків від загальної кількості. У групі нервових волокон середнього калібру в 9% мали площу поперечного перерізу $5,89 \text{ мкм}^2$. Серед волокон великого калібру з площею поперечного перерізу $11,04 \text{ мкм}^2$ – 6%, волокна з площею поперечного перерізу $8,24 \text{ мкм}^2$ зустрічалися в 5% від загальної кількості, по 4% припадало на волокна з площею поперечного перерізу $12,51 \text{ мкм}^2$ та $15,89 \text{ мкм}^2$.

При електронномікроскопічному дослідженні виявлено, що мієлінові оболонки нервових волокон були розшаровані, їх контури нерівні, осьові циліндри потовщені, в аксоплазмі спостерігалися набряклі мітохондрії; мікротрубочки та нейрофіламенти незмінені (рис. 1).

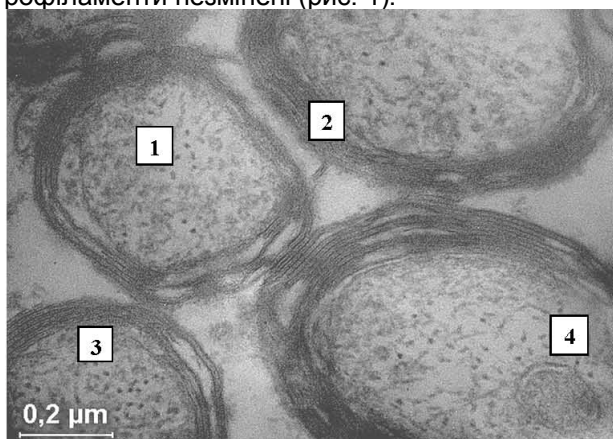


Рис. 1. Ультраструктура нервових волокон зорового нерва щура на 5-у добу гострого асептичного невриту. Набряк аксоплазми, розшарування мієлінових оболонок: 1 – аксон; 2 – мієлінова оболонка; 3 – мікротрубочки; 4 – мітохондрія.

На 7-у добу помітно збільшилася кількість нервових волокон дрібного калібру. У відсотковому співвідношенні це 32%. По 34% припадало на волокна з середнім та великим калібром. В 1,8 рази ($p < 0,001$) у порівнянні з попереднім терміном зменшилося середнє значення площі поперечного перерізу нервових волокон та становило $5,79 \pm 0,43 \text{ мкм}^2$.

Самі нервові волокна мали округлу форму, вкриті мієліновою оболонкою. подекуди зустрічалися волокна неправильної форми.

У групі дрібних волокон найчастіше, в 6% від загальної кількості, зустрічалися волокна з площею поперечного перерізу $1,23 \text{ мкм}^2$. У групі волокон середнього калібру 6% від загальної кількості становили волокна із площею поперечного перерізу $4,91 \text{ мкм}^2$. Серед волокон великого калібру в 6% зустрічалися волокна з площею по-

перечного перерізу $7,07 \text{ мкм}^2$ та в 5% – $8,24 \text{ мкм}^2$.

Щільність концентрації нервових волокон на 900 мкм^2 становила $57,90 \pm 1,73$, що в 1,2 рази ($p < 0,001$) менше в порівнянні з інтактною групою.

На 10-у добу дослідження нервові волокна були округлої форми, вкриті мієліновою оболонкою. Середня площа поперечного перерізу в 1,2 рази ($p < 0,05$) зменшилася у порівнянні з попереднім терміном та становила $4,65 \pm 0,29 \text{ мкм}^2$. Цей показник був в 1,3 рази ($p < 0,05$) більший за показник у інтактній групі тварин.

Щільність концентрації нервових волокон на 900 мкм^2 становила $52,90 \pm 3,07$, що в 1,3 рази ($p < 0,001$) менше в порівнянні з інтактною групою.

Нервові волокна дрібного калібру становили 39% від загальної кількості, волокна середнього калібру – 36%, великого – 25%. У групі дрібних нервових волокон найчастіше зустрічалися волокна з площею поперечного перерізу $1,77 \text{ мкм}^2$ і $2,40 \text{ мкм}^2$ (по 5% від загальної кількості) та з площею поперечного перерізу $0,79 \text{ мкм}^2$ і $2,94 \text{ мкм}^2$ (по 4% від загальної кількості). Серед волокон середнього калібру найбільшу групу становили волокна з площею поперечного перерізу $4,86 \text{ мкм}^2$ (5% від загальної кількості), 4% припадало на волокна з площею поперечного перерізу $6,48 \text{ мкм}^2$ та по 3% від загальної кількості – на волокна з площею поперечного перерізу $3,43 \text{ мкм}^2$ і $5,94 \text{ мкм}^2$. У групі волокон великого калібру в 6% від загальної кількості зустрічалися волокна з площею поперечного перерізу $8,29 \text{ мкм}^2$.

На 14-у добу дослідження встановлено, що нервові волокна були округлої форми, вкриті мієліновою оболонкою. Середнє значення площі поперечного перерізу становило $4,54 \pm 0,34 \text{ мкм}^2$, що в 1,3 рази ($p < 0,05$) менше, ніж в інтакті.

Щільність концентрації нервових волокон на 900 мкм^2 становила $51,60 \pm 2,29$, що в 1,4 рази ($p < 0,001$) менше у порівнянні з інтактною групою.

Серед усіх нервових волокон 41% становили волокна з площею поперечного перерізу меншою 3 мкм^2 , 45% займали волокна з площею поперечного перерізу 3-7 мкм^2 та 14% – з площею поперечного перерізу більшою 7 мкм^2 . У групі нервових волокон дрібного калібру по 8% від загальної кількості становили волокна з площею поперечного перерізу $1,23 \text{ мкм}^2$ та $2,4 \text{ мкм}^2$. Серед волокон середнього калібру в 6% від загальної кількості зустрічалися волокна з площею поперечного перерізу $3,93 \text{ мкм}^2$ та $4,42 \text{ мкм}^2$, в 5% – з площею поперечного перерізу $5,89 \text{ мкм}^2$. Серед волокон великого калібру групи з різною площею поперечного перерізу волокон зустрічалися в 1-2% від загальної кількості.

При дослідженні структури зорового нерва на 21-у добу експерименту виявлено, що на поперечних перерізах нервові волокна були округлої або овальної форми, вкриті мієліновою оболон-

кою.

Відсоткове співвідношення нервових волокон різного калібру не відрізнялося від інтакту. В 55% від загальної кількості становили волокна дрібного калібру, 38% – середнього та 7% – великого.

Площа поперечного перерізу зменшилася в 1,4 рази ($p < 0,01$) у порівнянні з попереднім терміном і становила $3,31 \pm 0,24$ мкм². Цей показник не відрізнявся від такого в інтактній групі. У групі з нервовими волокнами дрібного калібру в 5% від загальної кількості зустрічалися волокна з площею поперечного перерізу $0,98$ мкм² та $2,40$ мкм², в 7% – з площею поперечного перерізу $1,23$ мкм². У групі нервових волокон середнього калібру 5% від загальної кількості припадало на волокна з площею перерізу $4,42$ мкм². Серед нервових волокон великого калібру групи з різною площею поперечного перерізу зустрічалися в 1-2% від загальної кількості.

Щільність концентрації нервових волокон на 900 мкм² становила $42,90 \pm 1,66$, що в 1,6 рази ($p < 0,001$) менше в порівнянні з показником в інтактній групі та в 1,2 рази ($p < 0,01$) менше, ніж у попередній термін спостереження.

Детальне вивчення напівтонких зрізів на 30-у добу спостереження виявило, що більшість нервових волокон були дрібного калібру, овальної або округлої форми, вкриті мієліновою оболонкою. На гістологічному препараті помітно, що нервові волокна оточені оптично світлим вакуолями, утвореними накопиченням набрякової рідини.

При електронномікроскопічному дослідженні в більшій частині волокон спостерігалось відновлення структури цитоплазми аксона та впорядкування мієлінової оболонки, але зустрічалися нервові волокна, що мали неправильні контури та розшаровані мієлінові оболонки (рис. 2).

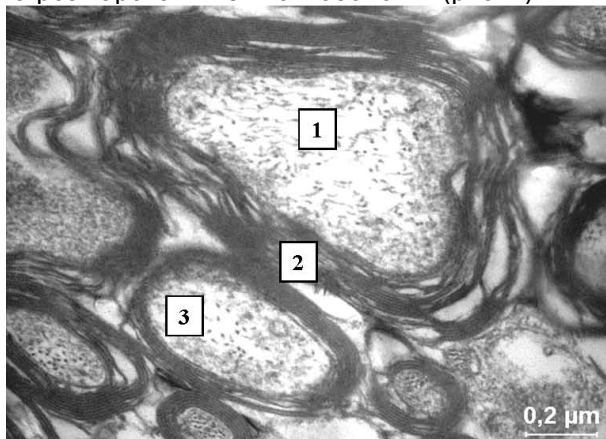


Рис. 2. Ультраструктура нервових волокон зорового нерва щура на 30-у добу гострого асептичного невриту. Розшарування мієлінових оболонок окремих нервових волокон: 1 – аксон; 2 – мієлінова оболонка; 3 – мікротрубочки.

При морфометричному дослідженні встановлено, що середня площа поперечного перерізу нервових волокон становила $2,61 \pm 0,20$ мкм², що в 1,4 рази ($p < 0,01$) менше у порівнянні з інтактом.

Помітно зменшилася щільність концентрації нервових волокон, яка становила $35,30 \pm 1,87$, що в 1,9 рази ($p < 0,001$) менше у порівнянні з інтактною групою та в 1,2 рази ($p < 0,01$) менше у порівнянні з попереднім терміном.

Змінилося відсоткове співвідношення волокон різного калібру. 70% від загальної кількості становили волокна з площею поперечного перерізу меншою 3 мкм², 26% – з площею поперечного перерізу від 3 до 7 мкм², та 4% – з площею поперечного перерізу більшою 7 мкм². В 9% від загальної кількості зустрічалися волокна з площею поперечного перерізу $0,79$ мкм², в 8% – з площею поперечного перерізу $1,23$ мкм², в 10% – з площею поперечного перерізу $1,77$ мкм² та в 6% – з площею поперечного перерізу $2,75$ мкм². У групі волокон середнього калібру по 5% від загальної кількості припадало на волокна з площею поперечного перерізу $4,32$ мкм² та $5,94$ мкм², 3% – на волокна з площею поперечного перерізу $4,91$ мкм² та лише 2% – на волокна з площею поперечного перерізу $5,29$ мкм². Серед нервових волокон великого калібру групи з різною площею поперечного перерізу зустрічалися в 1-2% від загальної кількості.

Висновки

1. Встановлено, що при розвитку гострого асептичного запалення в зоровому нерві щурів спостерігалися морфофункціональні зміни з боку нервових волокон, які були найбільш виражені на п'яту добу експериментального невриту.

2. На 30-у добу залишилася зміненою ультраструктура нервових волокон, більшість з них були дрібного калібру, зменшилась їх щільність концентрації на одиницю площі.

Перспективи подальших досліджень у даному напрямку

Проведені дослідження змін ультраструктури нервових волокон та їх морфометричних показників в динаміці експериментального запалення зорового нерва відкриває перспективи для оптимізації методів лікування невритів зорового нерва.

Література

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 1990. – 384 с.
2. Вітовська О. П. Впровадження стратегій профілактичної медицини як умова зменшення тягаря очних хвороб / О. П. Вітовська, О. І. Тимченко // Актуальні питання гігієни та екологічної безпеки України : наук.-практ. конф., 22-23 травня 2008 р. : тези доповідей. – К., 2008. – С. 112-113.
3. Гельсінська Декларація Всесвітньої медичної асоціації / Морфологія. – 2010. – Т. 4, № 2. – С. 65-68.
4. Закон України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорсткого поводження» / Верховна Рада України. – Офіц. вид. – Відомості Верховної Ради України. – 2006. – № 7. – С. 230.
5. Карупу В. Я. Електронна мікроскопія / В. Я. Карупу. – К. : Вища школа, 1984. – 208 с.
6. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2000. – 320 с.
7. Методические указания к изучению темы: «Применение микро-ЭВМ для карิโอметрической оценки состояния тканей человека при патологических процессах» / [А. П. Гасюк, Н. С. Скрипников, М. Я. Нидзельский и др.]. – Полтава, 1985 – 16 с.

8. Пат. 75669 України, МПК G01N 1/30. Спосіб забарвлення напівтонких зрізів / В.І. Шелітько, Г.А. Єрошенко, О.С. Якушко [та ін.] ; № u2012 06261 ; заявл. 24.05.2012 ; опубл. 2012.10.12.
9. Патологическая физиология / Под ред. А. Д. Адо, В. В. Новицкого. – Томск : Изд-во Том. ун-та, 1994. – 468 с.
10. Питько В. А. Механизмы иммунологического действия фетальных препаратов при экспериментальном воспалительном процессе / В. А. Питько // Проблемы криобиологии. – 2000. – № 4. – С. 72-75.
11. Риков С. О. Наукове обґрунтування системи надання офтальмологічної допомоги населенню України : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук : спец. 14.02.03 "Соціальна медицина", 14.01.18 "Офтальмологія" / С. О. Риков. – К., 2004. – 36 с.
12. Lynn J. A. Rapid toluidine blue staining of epon-embedded and mounted "adjacent" sections / J. A. Lynn // Am. J. Clin. Pathol. – 1965. – V. 44. – P. 57-58.
13. Reynolds E. S. The use of lead citrate at high pH as an electron-paque stain in electron microscopy / E. S. Reynolds // J. Cell Biol. – 1963. – V. 17. – P. 208-212.
14. Stempak J. G. An improved staining method for electron microscopy / J. G. Stempak, R. T. Ward // J. Cell Biol. – 1964. – V. 22. – P. 697-701.

Реферати

СТРУКТУРНИЙ І МОРФОМЕТРИЧЕСЬКИЙ АНАЛІЗ НЕРВНИХ ВОЛОКОН ЗРИТЕЛЬНОГО НЕРВА КРЫС ПРИ ОСТРОМ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ НЕВРИТЕ

Якушко Е.С.

Ключевые слова: зрительный нерв, нервные волокна, экспериментальный неврит.

Целью исследования было изучение ультраструктурных особенностей нервных волокон зрительного нерва крыс и их морфометрический анализ при остром экспериментальном воспалении. Исследование проведено на 55 половозрелых крысах - самцах линии "Вистар", которые были разделены на две группы: I группа - интактная (10 крыс), II группа (45 крыс), которым однократно внутрибрюшинно введено λ -каррагинен (5 мг в 1 мл физиологического раствора). Наиболее выраженные проявления воспалительной реакции со стороны нервных волокон наблюдались на пятый день исследования. Миелиновые оболочки нервных волокон были расслоенные, их контуры неровные, осевые цилиндры утолщенные, в аксоплазме наблюдались набухшие митохондрии; микротрубочки и нейрофиламенты изменены. К 30-м суткам наблюдения ультраструктура большинства нервных волокон не восстановилась, уменьшилась их плотность концентрации на единицу площади.

Summary

STRUCTURAL AND MORPHOMETRIC ANALYSIS OF NERVE FIBERS OF OPTIC NERVE IN RATS UNDER MODELED ACUTE NEURITIS

Yakushko O.S.

Key words: optic nerve, nerve fibers, experimental neuritis.

Studying pathologies of the optic nerve is one of the actual trends in current ophthalmology and morphology. To search for effective therapies of optic neuritis it is necessary to study the dynamics of inflammatory process within the optic nerve at light microscopic and on ultramicroscopic level.

The purpose of work was to investigate the ultrastructural features and morphometric analysis of nerve fibers of the rats' optic nerve in modeled acute inflammation.

Materials and Methods. This work was performed on 55 Wistar male rats. The retrobulbar part of the optic nerve was the object of the study was. Animals were divided into groups: I group comprised 10 intact rats, II group involved 45 animals which were injected with intraperitoneal λ -karaginen (5 mg in 1 ml saline). Animals were euthanized by overdosage of thiopental anesthesia on 1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 21 and 30 day of the experiment. The materials obtained were treated according to the rules adopted in electron microscopy. For the morphometric analysis of the obtained epoxy blocks we made series of semithin sections. The ultrastructure of nerve fibers was studied by electron microscopy. Statistical analysis of data was performed using Excel.

Results. The study found that from the 1st to the 5th day the increase in manifestations caused by inflammatory process in the structure of the rats' optic nerve were observed. On the fifth day nerve fibers with a large cross-sectional area as large vacuoles resulting edema of axial cylinder were found out, thinning of the myelin sheath. The average cross-sectional area of nerve fibers reached a maximum value and amounted to $10,56 \pm 0,95 \mu\text{m}^2$, which is 3-fold ($p < 0.001$) higher compared to the intact group. By electron microscope study we found out that the myelin sheath of nerve fibers was laminated, their contours were rough, axial cylinders were thickened, swollen mitochondria were observed in axoplasm, microtubules and neurofilaments were unchanged. From the 7th day the value of the average cross-sectional area of nerve fibers was gradually decreasing, number of fibers of small caliber increased, concentration of nerve fibers per unit area ($900 \mu\text{m}^2$) decreased. On the 30th day of observation at electron microscope study the was found that in majority of fibers there was restoration of the structure of the cytoplasm of the axon and myelin sheath arrangement, but some nerve fibers had irregular contours and laminated myelin sheath.

Conclusions. 1. It has been found out that during the development of acute aseptic inflammation in the optic nerve of rats morphological changes in nerve fibers are observed. They become the most expressed on the fifth day of the experimental neuritis. 2. On the 30th day the ultrastructure of nerve fibers remains altered. Most of the fibers are of were small caliber, their density and concentration per unit area decrease.