

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЕРДЕЧНОЙ И СКЕЛЕТНОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ КРОЛИКОВ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ СВИНЦОМ

¹Голубев А.И., ¹Куприянова М.А., ^{1,2}Сальникова М.М., ^{1,2}Саитов В.Р.

¹ Казанский приволжский федеральный университет, г. Казань, Российская Федерация

²Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности, г. Казань, Российская Федерация

Аннотация. Аккумуляция свинца и его соединений в различных экосистемах с каждым годом представляет все большую угрозу для здоровья человека и животных. Наиболее серьезно эта проблема стоит в мегаполисах. Установленные критерии и результаты практических исследований свидетельствуют о свинце как об одном из самых опасных экотоксикантов. В нашей работе проведен анализ влияния ацетата свинца на организм продуктивных животных, выявлены цитоморфологические и ультраструктурные изменения сердечной и поперечнополосатой (скелетной) мышечной ткани. Визуальные нарушения подтверждены морфометрическим анализом.

Ключевые слова: кролики, кардиомиоциты, мышечные волокна, митохондрии, ультраструктура, ацетат свинца, морфометрия.

CYTOLOGICAL CHANGES IN THE CARDIAC AND SKELETAL MUSCLE TISSUE OF RABBITS IN LEAD INTOXICATIONS

¹Golubev A.I., ¹Kupriyanova M.A., ^{1,2}Salnikova M.M., ^{1,2}Saitov V.R.

¹ Kazan Volga Federal University, Kazan, Russian Federation

²Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation

Abstract. The pollution and accumulation of lead and its compounds in the natural environment every year poses an increasing threat to human health and natural ecosystems. This problem is the most serious in megacities. The established criteria and the results of practical studies indicate lead as one of the most dangerous ecotoxicants. In the present work, the effect of lead acetate on the body of productive animals was analyzed, and cytomorphological and ultrastructural changes in the heart and striated (skeletal) muscle tissue were revealed. Visual disorders are confirmed by morphometric analysis.

Keywords. rabbits, cardiomyocytes, muscle fibers, mitochondria, ultrastructure, lead acetate, morphometry.

Сведения о опасности последствий токсического воздействия тяжелых металлов, в особенности свинца на организм животных и человека широко известны [8, 10].

До недавнего времени этот опасный элемент в больших объемах попадал в воздух от автомобильного транспорта, потому что тетраэтилсвинец использовали как добавку к бензину. В настоящее время этилированное топливо запрещено в большинстве государств, но в почвах вблизи автомобильных дорог до сих пор выявляется существенное содержание свинца. В старинных зданиях до сих пор имеются водопроводные трубы, для зачеканки которых применяли свинец. В подобных водопроводах данный химический элемент попадает в питьевую воду. Интересен тот факт, что выделение ионов свинца в мягкой воде более повышенное, чем в жесткой. Подсчитано, что концентрации свинца в питьевой воде и грунтовых водах составляют от 1 до 60 мкг/л [4].

Для свинца характерна кумуляция, длительное «присутствие» в самых разнообразных биологических объектах, причем он способен депонироваться в определенных органах. По сведениям [1] при техногенных загрязнениях в организме коров свинец накапливается избирательно – в костях, почках и печени, и существенно влияет на морфофункциональную систему «мать-плацента-плод».

Вместе с тем, в доступной научной литературе имеется недостаточно сведений о влиянии свинца на поперечнополосатую мускулатуру мышц и миокарда животных в особенности на ультраструктурном уровне [5, 2], хотя различные нервно-мышечные изменения у разных видов известны годами [9].

В связи с вышесказанным, ультраструктурные исследования патологических нарушений в миокарде и мышечных волокнах, возникающих при свинцовой интоксикации, имеет актуальный научный интерес.

Материалы и методы. В исследованиях использовали 2 группы кроликов породы «Шиншилла» возрастом 9 – 10 месяцев и весом 2 – 3 кг. Первая группа животных, являлась биологическим контролем, а вторая получала уксуснокислый свинец в виде водного раствора (свинца ацетата ($C_4H_6O_4Pb \times 3H_2O$) – ГОСТ 4426 – 75) в дозе 1/10 от ЛД₅₀ в течение 40 дней. В обеих группах было по три особи.

Электронная микроскопия. У всех животных были взяты образцы ткани икроножной мышцы и миокарда, которые были подготовлены по стандартной методике получения ультратонких срезов [6]. Полутонкие срезы просматривали в поле зрения светового микроскопа Axio Imager M2 и получали цифровые изображения. Просмотр ультратонких срезов проводили на просвечивающем электронном микроскопе Jem 100 CX II. Для съемки использовали техническую фотопленку Agfa orthochromatic. Профессиональный сканер Epson perfection 4990 foto при разрешении 800 dpi, использовали для оцифровки негативов. Работу с цифровыми снимками, включая морфометрический анализ осуществляли с помощью программ PhotoShop CC 2016 и Axio Vision Rel. 4.8.2 (Carl Zeiss). Обработанные электронограммы объектов исследований описывали в соответствии с современными научными стандартами.

Морфометрические показатели. С этой целью использовали программу Axio Vision Rel. 4.8.2 (Carl Zeiss). Определяли средний диаметр (в мкм) мышечных волокон, миофибрилл волокон скелетной ткани, среднюю площадь (в мкм²) кардиомиоцитов, митохондрий, плотность крист (количество на мкм) в митохондриях сердечной мышечной ткани кроликов. Чтобы определить параметры площади применяли пункт меню «Measure». Контур структуры плавно обводили инструментом «Outline – Outline spline». Полученные результаты подвергались статистической обработке с помощью программы Microsoft Excel и t-теста Стьюдента для независимых выборок.

Результаты светооптических и электронно-микроскопических исследований контрольных групп кроликов показали естественную морфологическую сбалансированность клеток сердечной и скелетной мышечной ткани (рис. 1 А, 2 А).

Исследование в поле зрения светового микроскопа миоцитов и кардиомиоцитов кроликов после воздействия ацетата свинца в дозе 1/10 ЛД₅₀ на 40 день выявило деструктивные изменения. Происходит увеличение размеров мышечных волокон за счет набухания межфибрилярного пространства саркоплазмы. На полутонких срезах визуализируются просветленные участки саркоплазмы с диаметром в среднем на 73% большим, такового в контрольной группе кроликов (табл. 1).

Ядра кардиомиоцитов на поперечных срезах локализуются в центре или чуть смещены к периферии. Околоядерная зона хорошо визуализируется, вероятно, за счет набухания саркоплазмы. Миофибриллы на продольных срезах с поперечной исчерченностью, имеются вставочные диски. По сравнению с контрольной группой средняя площадь клеток миокарда увеличивается почти в 2 раза (на 93%).

При электронно-микроскопическом исследовании в миоцитах кроликов после воздействия ацетата свинца отмечают изменения в расположении ядерного хроматина. За счет разрастания коллагена в соединительной ткани увеличивается пространство между мышечными волокнами. Мощные пучки коллагена визуализируются между волокнами, окружая капилляры и лимфатические сосуды. Кроме того, в мышечных волокнах выявляется набухание межфибрилярного пространства, саркоплазма приобретает хлопьевидную структуру (рис. 1 Б). Миофибриллы саркоплазмы размещаются достаточно рыхло, а их диаметр становится меньше в сравнении с группой биологического контроля на 35% (табл. 1). По всей вероятности, это ведет к резкому понижению прочности миофибрилл. В саркоплазматической сети отмечается набухание каналов, повреждения митохондрий и белок-синтезирующего комплекса.

Ультраструктурные исследования кардиомиоцитов группы кроликов, получавших ацетат свинца в дозе 1/10 ЛД₅₀ свидетельствуют о перераспределении хроматина в ядерном аппарате, нарушении ультраструктур цитоплазмы. Между пучками миофибрилл можно видеть большое количество митохондрий аналогично контрольной группе, но нарушена упорядоченность их расположения. Матрикс этих компартментов умеренной плотности или просветленный, в некоторых, пластинчатые кристы хорошо развиты. Многие митохондрии объединяются в единую митохондриальную сеть посредством межмитохондриальных контактов.

В клетках формируется популяция митохондрий с патологическими признаками: нарушение целостности одной или обеих мембран, очень малое количество или полное отсутствие крист, электронно-прозрачный матрикс в результате нарушения коммуникационных систем (рис. 2 Б). Морфометрический анализ митохондрий клеток миокарда демонстрируют набухание митохондрий в 2

раза и снижение количества крист на 45% (табл. 1) по сравнению с контрольной группой кроликов, что приводит к угнетению клеточного дыхания вследствие изменения белков-каналов мембранного транспорта и нарушения активности ферментов дыхательной цепи.

Таблица 1 – Морфометрические показатели клеток скелетной и сердечной мышцы кроликов

Показатель	Контрольная группа	Опытная группа
Средний диаметр мышечных волокон, мкм,	42*	73*
Средний диаметр миофибрилл, мкм	1,03*	0,68*
Средняя площадь кардиомиоцитов, мкм ²	332*	641*
Плотность крист в митохондриях кардиомиоцитов, количество на мкм	9*	4,05*
Средняя площадь митохондрий кардиомиоцитов, мкм ²	0,8*	1,6*

Примечание: * – различия с контролем достоверны, $p \leq 0,05$

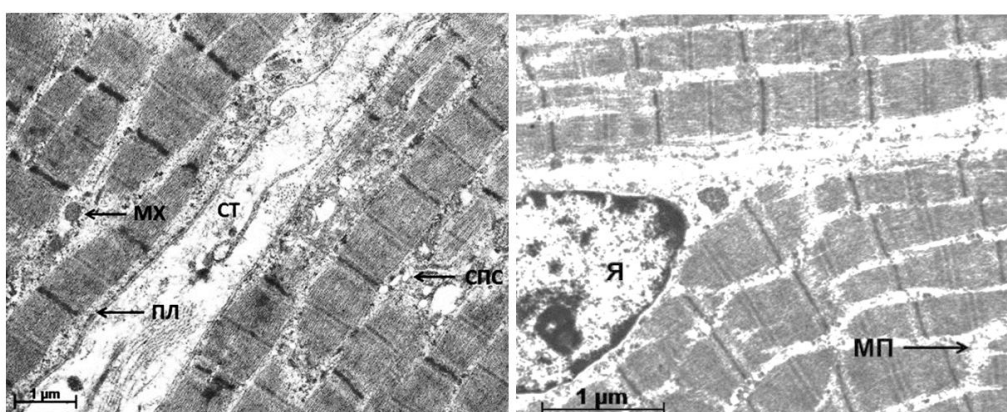


Рисунок 1 - Электронная микроскопия. Участки мышечных волокон скелетной мускулатуры кролика. А – биологический контроль; Б – после воздействия ацетата свинца в дозе 1/10 ЛД₅₀ на 40 день. Просматривается набухание межфибрилярного пространства саркоплазмы. Условные обозначения: Я – ядро, МП – межфибрилярное пространство, МХ – митохондрия, ПЛ – плазмолемма, СТ – соединительная ткань, СПС – саркоплазматическая сеть.

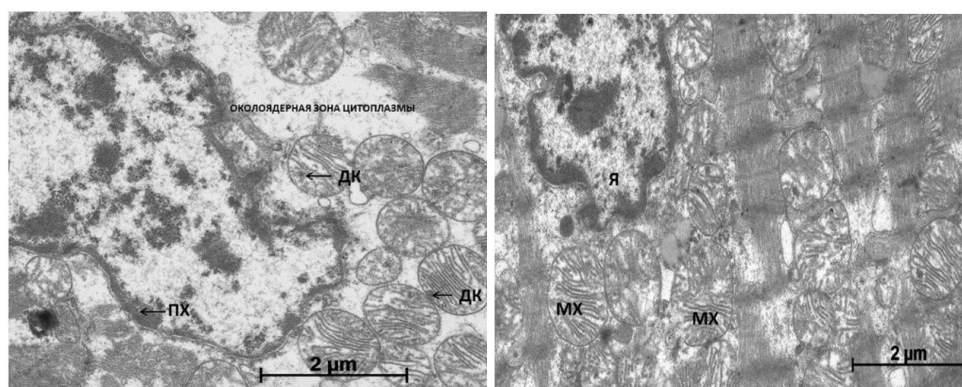


Рисунок 2 - Электронная микроскопия. Участки кардиомиоцитов кролика. А – биологический контроль; Б – после воздействия ацетата свинца в дозе 1/10 ЛД₅₀ на 40 суток. Условные обозначения: Я – ядро, ПХ – пристеночный хроматин в ядре, МХ – митохондрия, ДК – депозиты фосфата кальция.

По мнению [7], токсическое действие свинца прежде всего связано с блокированием сульфгидрильных групп белков, что приводит к инактивации ферментов, образует металлопротеидные комплексы в ядре. Известно, что свинец способен накапливаться, заменяя фосфаты кальция в митохондриях. Этим объясняются обнаруженные нами изменения в структуре генетического и энергетического аппаратов.

Полученные в ходе нашего эксперимента данные, свидетельствуют о том, что после воздействия ацетата свинца в апробированной дозе в клетках миокарда в большей мере выявляются нарушения

органоидных структур, нежели в миоцитах скелетной мускулатуры. В литературе отмечено, что накопление свинца в организме сельскохозяйственных животных происходит в следующей последовательности: печень – почки – трубчатые кости – селезенка – мышечная ткань [3].

Выводы: Цитоморфологические исследования скелетной и сердечной мышечной ткани кроликов после воздействия ацетата свинца в дозе 1/10 ЛД₅₀ к 40 суткам продемонстрировали подвижки структуры ядерного аппарата, набухание мышечных волокон и кардиомиоцитов, каналов саркоплазматической сети, сокращение размера миофибрилл и дезинтеграция белок-синтезирующего комплекса. В кардиомиоцитах отмечены нарушения ультраструктуры митохондрий: набухание митохондрий и деструкция крист.

Список использованных источников

1. Виноградова, О.В. Морфология функциональной системы «мать-плод» крупного рогатого скота в различных экологических зонах Свердловской области: автореф. дисс....канд. вет. наук: 16.00.02 / Виноградова Ольга Витальевна. – Екатеринбург, 2004. – 22 с.
2. Иванов, А.В. Эффективность лекарственных средств при сочетанном отравлении животных диоксином и свинцом / А.В. Иванов, К.Х. Папуниди, М.Я. Трemasов, И.Р. Кадиков, М.М. Сальникова, В.Р. Саитов, К.А. Осянин, И.Ф. Вафин // Достижения науки и техники АПК. 2012. – № 3. – С. 58–62.
3. Куценко, С.А. Основы токсикологии: научно-методическое издание / С.А. Куценко. – СПб.: Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, 2002. – 395 с.
4. Прокопенко, Ю.Д. Отравление длиною в жизнь / Ю.Д. Прокопенко // Наука и жизнь 2015. – № 1. – С. 30–34.
5. Саитов, В.Р. Ультраструктура кардиомиоцитов кроликов: ксенобиотики и лечение / В.Р. Саитов, К.А. Осянин, М.М. Сальникова // В сборнике: Научное обеспечение агропромышленного производства материалы Международной научно-практической конференции. Курск. 2014. – С. 316–320.
6. Сальникова, М.М. Воздействие антибиотиков, тепла и гамма-облучения на ультратонкое строение возбудителей некробактериоза и бруцеллеза: дисс...канд. биол. наук: 06.02.02, 03.03.04 / Сальникова Марина Михайловна – Казань. 2013. – 140 с.
7. Улахович, Н.А. Экоотоксиканты: Учебно-методическое пособие для лекционного курса «Химия в экологии» / Н.А. Улахович, М.П. Кутырева, Э.П. Медянцева, С.С. Бабкина. – Казань: КГУ, 2010. – 56 с.
8. Чалая, О.С. Действие кадмия и свинца на организм молодняка свиней на откорме / Вестник Курской государственной сельскохозяйственной Академии 2013. – № 8. – С. 78 – 80
9. Buchheim, K. Myopathy: a possible effect of chronic low level lead exposure / K. Buchheim, G. Stoltenburg-Didinge, H. Lilienthal, G. Winneke // Neurotoxicology. 1998. – N. 19. – P. 539–545.
10. Pain, D.J. Effects of lead from ammunition on birds and other wildlife: A review and update / D.J. Pain, R. Mateo, R.E. Green // Ambio. – Vol. 48 – N. 9. – P. 935–953.