

Коллектив авторов, 2007
УДК 611.127:612.64

С.В. Залавина¹, Ю.И. Склянов² и Н.П. Бгатова³

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ МИОКАРДА КРЫС В СИСТЕМЕ МАТЬ—ПЛОД В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ КАДМИЯ

¹ Кафедра морфологии человека (зав. — проф. Т.А. Литвинова), ² кафедра гистологии и эмбриологии с цитологией (зав. — проф. Ю.И. Склянов) Новосибирского государственного медицинского университета; ³ лаборатория ультраструктурных исследований (зав. — проф. Н.П. Бгатова) Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН, г. Новосибирск

Изучали структуру миокарда, а также клеточные и внутриклеточные изменения кардиомиоцитов в системе мать — плод под воздействием кадмия. Сульфат кадмия вводили крысам внутривентриально с 1-х по 16-е сутки беременности. Исследовали миокард левого желудочка у беременных самок и 20-дневных плодов. Изменения в миокарде на фоне введения кадмия проявлялись уменьшением относительного объема кардиомиоцитов и кровеносных капилляров. Выявлялись нарушения ядерного и ядрышкового аппарата, признаки диффузного отека миофибрилл кардиомиоцитов, а также расширение межклеточных пространств в миокарде. Эти изменения при кадмиозе свидетельствуют о развитии регенераторно-пластической недостаточности миокарда в системе мать—плод.

Ключевые слова: кардиомиоциты, система мать — плод, кадмий.

Система «мать—плод» в большинстве медико-биологических исследований используется в качестве оптимальной биологической модели для изучения изолированного, комплексного и комбинированного действия факторов различной природы на организм. По мнению некоторых исследователей, она более чувствительна к факторам окружающей среды, чем традиционно используемые показатели онкологической заболеваемости [2].

Загрязнения внешней среды, особенно в черте города, в значительной степени обусловлены выбросами тяжёлых металлов, среди которых одним из самых распространённых является кадмий, широко применяемый в промышленности, сельском хозяйстве и на автотранспорте [1].

Известно, что одной из мишеней токсического влияния кадмия является сердечно-сосудистая система [13]. Поэтому целью данного исследования являлось изучение структурных изменений в миокарде беременной самки и плода на фоне кадмиоза.

Материал и методы. В эксперименте использовали крыс линии Вистар, которым с 1-х по 16-е сутки беременности внутривентриально вводили сульфат кадмия в дозе 0,5 мг/кг, растворённый в изотоническом растворе натрия хлорида. В параллельном контроле в те же сроки беременности внутривентриально вводили изотонический раствор в эквивалентном объёме. Все опыты проведены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). Всего использовано 30 крыс-самок, по 15 животных в группе и 40 плодов, по 20 в группе. На 20-е сутки беременности животных умерщвляли путем дислокации шейных позвонков

под эфирным наркозом. Обработку образцов проводили по общепринятой методике для световой и электронной микроскопии [8, 9].

После фиксации сердца в 10% нейтральном формалине вырезали поперечный кусочек через толщу всего желудочка, отступя 3 мм от верхушки сердца. Сердца плодов при заливке в парафин ориентировали так, чтобы срез проходил поперечно через левый желудочек. Морфометрическое исследование миокарда осуществляли в пределах циркулярного слоя левого желудочка на срезах толщиной 5 мкм, окрашенных гематоксилином—эозином. При этом учитывали анатомические особенности сердца крысы, а именно то, что каудальная часть сердца образована левым желудочком и имеет вид суженной верхушки сердца [6]. Для морфометрии использовали квадратную тестовую систему, содержащую 100 точек при увеличении в 700 раз. Определяли объёмную плотность ядер и цитоплазмы кардиомиоцитов, капилляров, интерстициального пространства. Кроме указанных показателей, у плода определяли долю митотически делящихся кардиомиоцитов.

Статистическую обработку полученных данных проводили на IBM PC/AT Pentium 4 в среде Windows XP с использованием пакета Microsoft Excel версии 9,0. Определяли средние выборочные показатели измеряемых объектов, ошибку среднего, среднее квадратичное отклонение, доверительный интервал. Различия считали значимыми при $P < 0,05$ (по t-критерию Стьюдента).

Результаты исследования. Проведение морфометрии на светооптическом уровне на фоне введения сульфата кадмия выявило снижение относительного объёма сосудистого компонента миокарда левого желудочка у самки и плода на 29% и в 2 раза соответственно по сравнению с контролем. Значимо уменьшился относительный объём интерстициального пространства миокарда

самки на 38% и увеличился относительный объём цитоплазмы кардиомиоцитов на 3%, что сопровождалось уменьшением относительного объёма ядер на 38%. Данные изменения в миокарде самки привели к увеличению паренхиматозно-стромального отношения на 39% по сравнению с соответствующей величиной в контроле.

В миокарде плода, наоборот, было отмечено увеличение относительного объёма интерстициального пространства на 50% и уменьшение относительного объёма кардиомиоцитов на 14% за счёт преимущественного снижения объёмной плотности цитоплазмы, что привело к снижению паренхиматозно-стромального отношения на 42% по сравнению с контрольными данными (таблица).

Кроме того, в миокарде плода была выявлена тенденция к уменьшению доли митотически делящихся кардиомиоцитов по сравнению с контролем ($0,23 \pm 0,09$ и $0,131 \pm 0,008\%$ соответственно).

При электронно-микроскопическом исследовании миокарда у самок при введении кадмия наблюдали участки с сильно выраженными проявлениями внутриклеточного отёка, что приводило к уменьшению межклеточных пространств между кардиомиоцитами. О внутриклеточном отёке кардиомиоцитов свидетельствовали набухание, нарушение их целостности, разрыхление миофибрилл, появление промежутков между ними. Выявлялся очаговый лизис миофиламентов (рис. 1).

Происходило нарушение целостности внутренних мембран митохондрий, проявляющееся очаговой деструкцией крист. Уменьшалось содержание прикрепленных рибосом и полисом, появлялись липидные включения. Было отмечено

набухание эндотелиоцитов кровеносных капилляров, при этом увеличивалась высота эндотелиальной выстилки, что сопровождалось нарастанием содержания крупных микропиноцитозных пузырьков.

При исследовании ультраструктурной организации кардиомиоцитов плода при введении сульфата кадмия были отмечены признаки интерстициального отёка, при этом возрастала объёмная плотность межклеточных пространств. Происходило изменение формы ядер кардиомиоцитов — нередко выявлялась складчатость контуров ядерной оболочки.

В структуре ядрышек часто наблюдали преобладание фибриллярного компонента над гранулярным. Были отмечены деструктивные изменения митохондрий и нарушение миофибриллогенеза, уменьшение содержания полисом и митохондрий. Происходило просветление матрикса митохондрий, снижение плотности расположения крист и формирование очагов лизиса. Наблюдалось уменьшение количества формирующихся миофибрилл, они имели различную толщину, теряли регулярную исчерченность, отмечено их разрыхление и набухание. В цитоплазме кардиомиоцитов появлялись крупные вакуоли, часто содержащие мембраноподобные структуры (рис. 2, 3).

Цитоплазма эндотелиоцитов кровеносных капилляров миокарда плода образовывала большое количество мелких выростов, направленных в просвет сосуда. В их цитоплазме уменьшалось количество микровезикул, цистерны гранулярной эндоплазматической сети приобретали извилистый ход, появлялись участки их дегрануляции.

Относительный объём структурных компонентов миокарда матери и плода при нормально протекающей беременности (1-я группа — контроль) и при введении сульфата кадмия с 1-х по 16-е сутки беременности (2-я группа) ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$, %)

Структуры миокарда	Объект исследования	Группы животных	
		1-я	2-я
Сосудистый компонент	Мать	$6,77 \pm 0,21$	$4,8 \pm 0,6^*$
	Плод	$6,35 \pm 0,94$	$2,9 \pm 0,6^*$
Ядра кардиомиоцита	Мать	$6,4 \pm 1,0$	$4,4 \pm 0,6^*$
	Плод	$17,7 \pm 1,3$	$16,5 \pm 0,8$
Цитоплазма кардиомиоцита	Мать	$71,6 \pm 0,6$	$73,8 \pm 0,9^*$
	Плод	$51,1 \pm 1,6$	$43,4 \pm 1,7^*$
Кардиомиоцит в целом	Мать	$78,1 \pm 2,3$	$78,2 \pm 0,9$
	Плод	$68,8 \pm 1,4$	$60,0 \pm 1,6^*$
Интерстициальное пространство	Мать	$14,9 \pm 1,3$	$9,3 \pm 0,7^*$
	Плод	$24,4 \pm 1,5$	$36,7 \pm 1,7^*$
Паренхиматозно-стромальные отношения	Мать	$6,5 \pm 0,8$	$10,7 \pm 1,3^*$
	Плод	$3,12 \pm 0,29$	$1,80 \pm 0,14^*$

* Различия значимы по сравнению с контролем при $P < 0,05$.

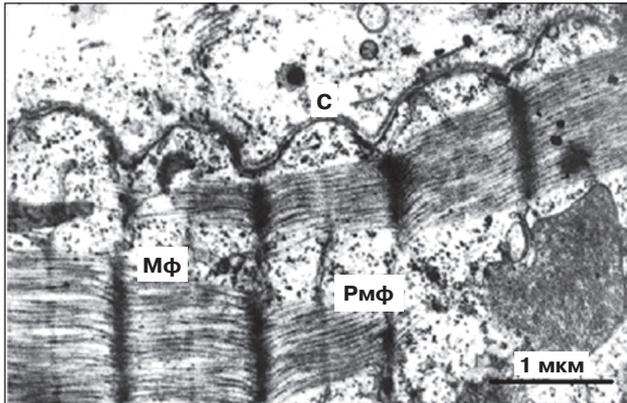


Рис. 1. Фрагмент цитоплазмы кардиомиоцита самки крысы при введении кадмия с 1-х по 16-е сутки беременности. Очаговый лизис миофибрилл (Мф); разрыв миофибрилл (Рмф); С — извитой контур сарколеммы.

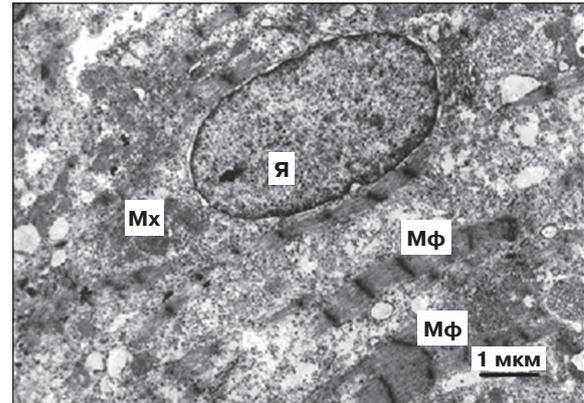


Рис. 2. Кардиомиоцит 20-суточного плода крысы контрольной группы при введении изотонического раствора натрия хлорида с 1-х по 16-е сутки беременности. Я — ядро; Мф — миофибриллы; Мх — митохондрии.

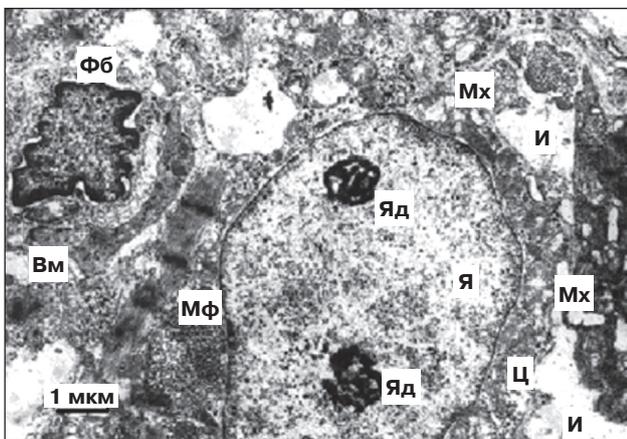


Рис. 3. Миокард 20-суточного плода крысы при введении кадмия с 1-х по 16-е сутки беременности. Яд — ядрышко; Ц — цитоплазма; И — интерстициальное пространство; Вм — вакуоли с мембранными структурами; Фб — фибробласт в интерстициальном пространстве. Остальные обозначения те же, что на рис. 2.

Обсуждение полученных данных. Обнаружено, что введение сульфата кадмия вызывает набухание кардиомиоцитов у самки, это проявляется увеличением относительного объема их цитоплазмы, уменьшением объемной плотности межклеточных пространств. Появление липидных капель свидетельствует о развитии жировой дистрофии в миокарде матери.

Известно, что непосредственной мишенью токсического действия кадмия являются митохондрии [15]. Нами отмечено изменение их формы, структуры и размеров в миокарде, как самки, так и их плодов. Являясь тиоловым ядом, кадмий способен нарушать функцию дыхательной цепи в митохондриях и ингибировать SH-группы ферментов цикла Кребса [3]. Развившиеся при этом изменения в митохондриях приводят к снижению синтеза макроэргов, падению актив-

ности АТФ-зависимых ферментативных систем (K-Na-АТФазы и Ca-Mg-АТФазы) и как результат — происходит накопление натрия в клетках, что обуславливает увеличение осмолярности и повреждение клеток [14]. Накопление натрия в клетках вызывает повышенную гидратацию кардиомиоцитов, приводящую к гидropическому разволокнению миофибрилл.

Обнаруженное нами свойство кадмия вызывать повреждение эндотелия кровеносных капилляров, по-видимому, приводит к повышению их проницаемости. Следствием этого является формирование интерстициального отека, который выявляется на светооптическом и электронно-микроскопическом уровнях в миокарде самок и плодов.

Кроме того, известно, что кадмий вызывает активацию перекисного окисления липидов [3, 11, 12], которая протекает в липидной фазе биологических мембран. Это объясняет отмеченные нами нарушение структуры внутренней мембраны митохондрий и лизис крист митохондрий.

Известно, что воздействия неблагоприятных факторов на начальных этапах развития плода особенно резко меняют направление дифференциации различных органов и тканей [7]. Значимое уменьшение относительного объема цитоплазмы кардиомиоцитов плода и как следствие увеличение индекса ядро-цитоплазменного отношения при введении сульфата кадмия может свидетельствовать, по нашему мнению, о запаздывании под его влиянием темпов дифференцировки кардиомиоцитов, так как известно, что процесс дифференцировки последних в эмбриональном и постэмбриональном периодах характеризуется четкими критериями. Одним из таких критериев является увеличение объема цитоплазмы в 8–10 раз [10], т. е. чем выше специализация клеток, тем больше

размеры цитоплазмы превышают размер ядер. Кроме этого, выявление вакуолей в цитоплазме кардиомиоцитов, содержащих концентрические мембраны, может свидетельствовать о формировании очаговой дегенерации повреждённого участка цитоплазмы [5].

Наблюдаемое в нашем исследовании снижение митотической активности кардиомиоцитов плодов под влиянием сульфата кадмия может быть объяснено описанным в литературе свойством кадмия нарушать механизмы деления, что снижает темпы роста и жизнеспособность клеток [4].

Изменения структуры ядрышек кардиомиоцитов у плода, а именно, преобладание фибриллярного компонента над гранулярным, по-видимому, свидетельствует о нарушении образования рибосом и является отражением изменения белок-синтетической функции клеток [5].

Таким образом, введение сульфата кадмия в период беременности приводит к нарушению микроциркуляторного русла миокарда, а также структуры кардиомиоцитов, как самки, так и плода.

Наблюдаемые очаговые деструкции крист митохондрий, уменьшение содержания рибосом и полисом, а также разрывы и очаговый лизис миофибрилл в кардиомиоцитах самки, изменения структуры ядрышек и нарушение миофибриллогенеза в кардиомиоцитах плода свидетельствуют о развитии регенераторно-пластической недостаточности в миокарде матери и плода под воздействием сульфата кадмия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агаджанян Н.А. и Скальный А.В. Химические элементы в среде обитания и экологический портрет человека. М., Изд-во КМК, 2001.
2. Артемьева Е.К., Сетко Н.П., Сапрыкин В.Б. и Веккер И.Р. Концентрация микроэлементов в системе «мать — плацента — плод» на территориях с различным уровнем антропогенной нагрузки. В кн.: Микроэлементы в медицине. М., Изд-во КМК, 2000, т. 5, вып. 4, с. 1–3.
3. Валеева И.Х., Гумерова А.А. и Клясов А.Л. О механизме пролиферации гепатоцитов, индуцированной нитратом свинца. Казанск. мед. журн., 2000, т. 81, № 3, с. 195–197.
4. Воробьева Р.С. Кадмий. М., изд. Центра международных проектов ГКНТ, 1984.
5. Непомнящих Л.М., Лушникова Е.Л. и Семёнов Д.Е. Регенераторно-пластическая недостаточность сердца: Морфологические основы и молекулярные механизмы. М., Изд-во РАМН, 2003.
6. Ноздрачёв А.Д. и Поляков Е.Л. Анатомия крысы (лабораторные животные). СПб., Лань, 2001.
7. Рыжавский Б.Я. Состояние важнейших систем в эмбриогенезе: отдалённые последствия. Хабаровск, изд. Хабаровск. центра психического здоровья, 1999.
8. Семченко В.В., Барашкова С.А. и Артемьева В.Н. Гистологическая техника: Учебное пособие. Омск, изд. Омск. мед. акад., 2003.
9. Уикли Б. Электронная микроскопия для начинающих. М., Мир, 1975.
10. Ямщиков Н.В. Структурная организация мышечной ткани сердца и нарушения миогенеза в различные периоды развития: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Новосибирск, 1991.
11. Casalino E., Calzaretto G. and Sblano C. Antioxidant effect of hydroxytyrosol (DPE) and Mn²⁺ in liver of cadmium-intoxicated rats. *Biochem. Physiol. Toxicol. Pharmacol.*, 2002, v. 133, № 4, p. 625–632.
12. Falcon M., Vinas P., Perez-Carceles M.D. and Luna A. Placental cadmium and lipid peroxidation in smoking women related to newborn anthropometric measurements. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2003, v. 45, № 2, p. 278–282.
13. Kosanovic M., Jokanovic M., Jevremovic M. et al. Maternal and fetal cadmium and selenium status in normotensive and hypertensive pregnancy. *Biol. Trace Elem. Res.*, 2002, v. 89, № 2, p. 97–103.
14. Pourahmad J. and O'Brien P. J. Contrasting role of Na⁽⁺⁾ ions in modulating Cu⁽²⁺⁾ or Cd⁽²⁺⁾ induced hepatocyte toxicity. *Chem. Biol. Interact.*, 2000, v. 126, № 2, p. 159–169.
15. Rikans L.E. and Yamano T. Mechanisms of cadmium-mediated acute hepatotoxicity. *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, 2000, v. 14, № 2, p. 110–117.

Поступила в редакцию 04.01.07
Получена после доработки 15.06.07

STRUCTURAL CHANGES OF RAT MYOCARDIUM IN THE MOTHER-FETUS SYSTEM EXPOSED TO CADMIUM

S.V. Zalavina, Yu.I. Sklyanov and N.P. Bgatova

Myocardium structure and the pattern of cardiomyocyte cellular and intracellular changes were studied in rats following the exposure of the mother-fetus system to cadmium. Rats were intraperitoneally injected with cadmium sulfate during days 1–16 of pregnancy. Myocardium of the left ventricle was studied in pregnant females and fetuses on day 20 of gestation. Myocardium changes in cadmium-exposed animals included the reduction of cardiomyocyte and blood vessels relative volume in mother and fetus. The damage of the nuclear and nucleolar apparatus was detected, together with the signs of diffuse edema of cardiomyocyte myofibrils and dilatation of intercellular spaces within the myocardium. This changes in cadmium-exposed animals are indicative of the development of regenerative-plastic myocardium insufficiency in the mother-fetus system.

Key words: *cardiomyocytes, mother-fetus system, cadmium.*

Department of Human Morphology, Department of Histology, Cytology and Embryology, Novosibirsk State Medical Academy, Laboratory of Ultrastructural Research, SB RAMS Scientific Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Novosibirsk.