

Министерство образования и науки Российской Федерации  
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

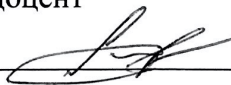
ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ  
КАФЕДРА ЗООЛОГИИ И ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ  
Направление подготовки 06.04.01 Биология  
Магистерская программа «Биоресурсы и биоразнообразие»

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА  
КУПРИЯНОВОЙ МАРИНЫ АЛЬБЕРТОВНЫ

ВЛИЯНИЕ СВИНЦА НА ОРГАНИЗМ КРОЛИКА:  
УЛЬТРАСТРУКТУРНЫЙ АСПЕКТ

Работа завершена:  
« 9 » 06 2020 г.  (М. А. Куприянова)

Работа допущена к защите:  
Научный руководитель  
Кандидат биологических наук, доцент  
« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2020 г. \_\_\_\_\_ (М. М. Сальникова)

Заведующий кафедрой  
Кандидат биологических наук, доцент  
« 10 » 06 2020 г.  (Р. М. Сабиров)

Казань – 2020

## СОДЕРЖАНИЕ

	страницы
Реферат	4-5
<b>1. Введение</b>	6-7
<b>1.1. Цель и задачи</b>	7-8
<b>2. Обзор литературы</b>	8
<b>2.1. Ультратонкое строение мышечной ткани</b>	8
<b>2.1.2. Строение скелетной мышцы</b>	9-15
<b>2.1.3. Строение сердечной мышцы</b>	15-22
<b>2.2. Морфология клеток и тканей гепаторенальной системы</b>	22
<b>2.2.1. Микроструктура паренхимы печени</b>	22-24
<b>2.2.2. Ультраструктура гепатоцитов</b>	25
<b>2.2.3. Микроструктура почек</b>	26-28
<b>2.3. Тяжелые металлы и их влияние на живые организмы</b>	29
<b>2.3.1. Краткая характеристика тяжелых металлов</b>	29-31
<b>2.3.2. Источники загрязнения свинцом окружающей среды</b>	31-35
<b>2.3.3. Токсическое действие свинца</b>	35-37
<b>2.3.4. Свинцовая интоксикация человека и животных</b>	38-41
<b>2.3.5. Влияние свинцовой интоксикации на ультраструктуру клеток мышечной ткани и паренхиматозных органов</b>	41-46
<b>3. Материалы и методы</b>	46-48
<b>4. Результаты исследования</b>	49
<b>4.1. Светооптические исследования скелетной</b>	49-52

мышцы	
<b>4.2.</b> Ультратонкие исследования скелетной мышцы	53-61
<b>4.3.</b> Светооптические исследования сердечной мышцы	62-63
<b>4.4.</b> Ультратонкие исследования сердечной мышцы	64-71
<b>4.5.</b> Светооптические исследования клеток коркового вещества почек	72-74
<b>4.6.</b> Ультратонкие исследования клеток коркового вещества почек	74-87
<b>4.7.</b> Светооптические исследования клеток печени	88-91
<b>4.8.</b> Ультратонкие исследования клеток печени	92-100
<b>5.</b> Обсуждение результатов	100-103
<b>6.</b> Выводы	104-105
<b>7.</b> Список литературы	106-113

## РЕФЕРАТ

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 ЛД<sub>50</sub> в течение 40 дней. В обеих группах было по три особи.

*Электронная микроскопия.* У всех животных были взяты образцы ткани икроножной мышцы, миокарда, паренхимы печени и коркового вещества почек, которые были подготовлены по стандартной методике получения ультратонких срезов. 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 С.

*Морфометрические показатели.* С этой целью использовали программу Axio Vision Rel. 4.8.2 (Carl Zeiss). Определяли средний диаметр (в мкм) мышечных волокон, миофибрилл скелетной ткани, среднюю площадь (в мкм<sup>2</sup>) кардиомиоцитов, гепатоцитов, эпителиоцитов проксимальных канальцев, митохондрий, плотность крист (количество на мкм) в митохондриях. 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 изученных образцов сердечной и скелетной мышечной ткани, паренхимы печени и коркового вещества почек.

В результате светооптических, электронно-микроскопических и морфометрических исследований, выявлено, что органы гепаторенальной

системы кроликов в большей степени подвержены хроническому отравлению ацетатом свинца в дозе 1/10 ЛД<sub>50</sub>. Эти органы имеют признаки гибели клеток и необратимые патологии: они уменьшаются в объеме почти до двух раз, клеточный детрит в синусоидах, пикнотические ядра, деструкция митохондрий, накопление металлопротеидов.

Цитоморфологические исследования скелетной и сердечной мышечной ткани кроликов после воздействия ацетата свинца в дозе 1/10 ЛД<sub>50</sub> к 40 суткам продемонстрировали подвижки структуры ядерного аппарата, набухание мышечных волокон и кардиомиоцитов, каналов саркоплазматической сети, сокращение размера миофибрилл и дезинтеграцию белок-синтезирующего комплекса. В кардиомиоцитах отмечены нарушения ультраструктуры митохондрий – набухание и деструкция крист.

## 1. ВВЕДЕНИЕ

Современный мир и развитие промышленности, как одно целое, не могут существовать друг без друга. Новейшие внедрения в отрасли народного хозяйства химических и технических процессов влекут за собой глобальные проблемы загрязнения окружающей среды. Антропогенная нагрузка, увеличивая ритмы биосферы, провоцирует циркуляцию множества сторонних для человека и животных соединений (экоотоксикантов), целый ряд которых имеют чрезвычайно высокую степень токсичности (Г.К. Будников, 1998).

Ядовитые и экологически опасные химические загрязнители, в природных биотических и абиотических компонентах надолго сохраняются, перемещаются и накапливаются. Высокие концентрации проявляют токсическое действие и отравляют здоровье животных и человека. Из органических экоотоксикантов особо следует выделить стойкие диоксины и диоксиноподобные соединения, а из неорганических – тяжелые металлы (Н.А. Клюев, 2002).

Общепризнанно, что свинец является одним из самых распространенных металлических ядов. Этот опасный элемент при контактах с кожей и попадании внутрь вызывает большее количество тяжелых патологий, а по степени воздействия на живые организмы отнесен к классу высокоопасных веществ наряду с мышьяком, кадмием, ртутью, селеном, цинком, фтором, бензапиреном (ГОСТ 3778-98 <http://dilion-m.ru/gost/3778-98.pdf>). Благодаря результатам практических исследований увеличение токсичности свинца осуществляется при недостатке в организме кальция и железа. Повышение дозы металла свидетельствуют о многих патологических эффектах в отношении действия на заболеваемость и смертность населения (Б.А. Ревич и др., 2004).

Воздействию свинца подвергаются рабочие, добывающие свинцовую руду, на свинцово – плавильных заводах, в производстве аккумуляторов, при пайке, в типографиях, при изготовлении керамических изделий, этилированного бензина, свинцовых красок и др. (Т.Н. Захарина и др., 2009).

Ведущими отраслями по использованию свинца являются электротехническая промышленность, приборостроение, полиграфия, цветная металлургия, предприятия оборонной промышленности. На сегодняшний день в России свинцовая интоксикация среди профессиональных занимает лидирующее место (И.Ф. Изомеров, 1998).

Свинцовая интоксикация (сатурнизм) – это условно профессиональная интоксикация, развивающаяся вследствие производственного контакта со свинцом и его соединениями, характеризующаяся поражением кроветворения, нервной, сердечно-сосудистой, пищеварительной и других систем и органов (В.М. Ретнев, 2007).

Выведение свинца из организма осуществляется через кишечник и почки. Многие клинические лабораторные исследования доказали, что этот высокотоксичный металл оседает в печени, почках, селезенке, в головном мозге и костях (Е.Б. Харитонова, Р.Н. Фомкин, 2013).

Разумеется, свинец еще длительное время не потеряет своего значения в промышленности, в связи с этим, изучение этого металла и его патоморфологических проявлений при интоксикации является насущной задачей. И по этой причине, я начала работу по исследованию морфологических ультраструктурных изменений мышечной ткани, печени и почек, а также их клеток.

## **1.1. ЦЕЛИ И ЗАДАЧИ**

**Цель:** Выявить цитоморфологические изменения в печени, почках и мышечной ткани кроликов при интоксикации ацетатом свинца.

**Задачи:**

1) Подготовить образцы тканей для оптической и электронной микроскопии.

2) Изучить морфофункциональные особенности гистоструктуры и ультраструктуры клеток паренхимы печени, коркового вещества почек,

скелетных мышечных волокон и кардиомиоцитов кроликов в норме и при интоксикации.

3). Произвести подсчет морфометрических показателей макро- и микроструктур печени, почек, скелетной мускулатуры и миокарда кроликов.

4) Выявить закономерности цитоморфологических изменений при свинцовой интоксикации в тканях кроликов.

## 2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 2.1 Ультратонкое строение мышечной ткани

Мышечная ткань, состоящая из дифференцированных клеток, содержит сократимые белки. Структура этих белков развивает усилия, необходимые для сокращения клеток, которое обеспечивает движение внутри отдельных органов и тела целиком. У млекопитающих выделяется три типа мышечной ткани, при этом каждый тип адаптирован к выполняемой ею физиологической роли.

*Скелетная мышечная ткань* (рис. 1) состоит из пучков длинных цилиндрических многоядерных клеток, имеющих поперечную исчерченность. У таких мышц сокращение сильное и быстрое, находится под произвольным контролем. Оно вызвано взаимодействием тонких актиновых филаментов с толстыми миозиновыми филаментами, молекулярная конфигурация которых дает скольжение друг по другу. Силы для скольжения собираются в результате слабых взаимодействий в мостиках, связывающих актин с миозином.

*Сердечная мышечная ткань* тоже обладает поперечной исчерченностью и состоит из отдельных разветвленных удлинённых клеток, располагающихся параллельно друг другу. В участках контактов концов этих клеток имеются вставочные диски – эти структуры обнаружены только в сердечной мышце.

*Гладкая мышечная ткань* состоит из скоплений веретенообразных клеток, не обладающих поперечной исчерченностью. Их процесс сокращения не подчиняется произвольному контролю и медленный.



## 6. ВЫВОДЫ

1) Проведенные исследования показывают, что паренхима печени, клетки коркового вещества почек, скелетная и сердечная мышечная ткань кроликов группы биологического контроля имеют архитектуру характерную для этих органов кроликов в нативном состоянии.

2) В результате светооптических, электронно-микроскопических и морфометрических исследований, выявлено, что среди обследованных органов кроликов гепатоциты и клетки коркового вещества почек в большей степени подвержены хроническому отравлению ацетатом свинца в дозе 1/10 ЛД<sub>50</sub>. Эти органы имеют признаки гибели клеток и необратимые патологии: они уменьшаются в объеме почти до двух раз, клеточный детрит в синусоидах, пикнотические ядра, деструкция митохондрий, накопление металлопротеидов.

3) Электронно-микроскопические исследования паренхимы печени кроликов, получавших ацетат свинца, демонстрируют нарушения ультраструктур цитоплазмы гепатоцитов: дезинтеграция рибосом и всего белок-синтезирующего комплекса, набухание каналов эндоплазматической сети.

4) Субмикроскопические исследования в почечных клубочках после воздействия ацетата свинца характеризуются дезорганизацией фильтрационного барьера, потерей щелевых диафрагм подоцитов, разрыхлением базальной мембраны. Нарушениями процесса ультрафильтрации из-за заполнения депозитами пространства между базальной пластинкой и эндотелием. Деструкцией микроворсинок и базального лабиринта в эпителиоцитах проксимальных канальцев.

5) Проведенные исследования показывают, что на 40 день после воздействия ацетата свинца в дозе 1/10 ЛД<sub>50</sub> в ультраструктуре кардиомиоцитов кроликов выявляются обратимые изменения, касающиеся ядерного аппарата,

набухания межфибрилярного пространства и каналов саркоплазматической сети. Мышечные волокна увеличиваются в размерах на 73%, а клетки миокарда на 93% по сравнению с контролем.

6) Электронно-микроскопические исследования и морфометрический анализ клеток всех обследованных органов, после воздействия ацетатом свинца, демонстрируют набухание митохондрий и потерю большого количества крист, что приводит к угнетению клеточного дыхания, вследствие изменения мембранного транспорта и нарушения активности ферментов, что определяет дефицит энергии в клетках или ее полное отсутствие.