УДК 57.012.4

УЛЬТРАСТРУКТУРА КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ЦЫПЛЯТ ПОСЛЕ ЦИНКОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Вишняков Александр Иванович
к.б.н., доцент
ГОУ ВПО «Оренбургский государственный университет», Оренбург, Россия

В статье представлены новые сведения о влиянии солей цинка в дозах 40 мг/кг и 60 мг/кг на гемопоэтические клетки красного костного мозга птицы на ультраструктурном уровне

Ключевые слова: КРАСНЫЙ КОСТНЫЙ МОЗГ, ПТИЦА, ЦИНК, ПРОЭРИТРОБЛАСТЫ, МЕГАКАРИОЦИТ

UDK 57.012.4

ULTRA STRUCTURE OF CELLS OF RED MARROW OF CHICKENS AFTER A ZINC INTOXICATION

Vichnyakov Alexander Ivanovich,
Cand.Biol.Sci., associate professor
SEI HVT «Orenburg state university», Orenburg, Russia

In the article, new data of the influence of salts of zinc in doses of 40 mg/kg and 60 mg/kg on haemopoetic cells of a red marrow of a bird at ultra structural level are presented

Keywords: RED MARROW, BIRD, ZINC, PROERYTHROBLASTES, MEGAKARIOCYTE

Интенсивное развитие промышленности в последние годы привело к тому, что проблема загрязнения окружающей среды и выживания человечества в этих условиях стала центральной проблемой современности и коснулась всех сфер деятельности человека. В ряде случаев технологические процессы вышли из-под контроля, вследствие чего происходит стремительное накопление нехарактерных для биосферы веществ (радионуклидов, тяжелых металлов и других токсикантов) (Романенко А.А., 2010).

Одним из приоритетных загрязнений окружающей среды являются тяжелые металлы и ксенобиотики, избыточное поступление которых в трофические цепи опасно для здоровья животных и человека (Лимин Б.В., Маймулов В.Г., Мясников И.О. и др., 2003).

По данным ряда авторов, ионы таких тяжелых металлов, как цинк, кадмий, свинец, ртуть, хром, медь, никель, молибден и другие при повышенном содержании в окружающей среде, могут ингибировать жизнедеятельность многих живых организмов и индуцировать неэнзиматический разрыв химических связей в молекуле ДНК, приводящий к одно- и двунитевым разрывам с образованием хромосомных

аберраций, оказывая влияние на синтез ДНК в клетке и вызывая репрессию генома (Красовский Г.Н., Соколовский В.В., 1979; Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А., 1986; Бегалиев А.Б., 1986).

Как известно, система крови является одной из самых чувствительных, так называемых «критических систем». В ряде случаев изменения в гемопоэзе возникают при действии на организм сравнительно малых доз веществ и могут быть единственным диагностическими показателями заболеваний и их последствий.

Целью исследования являлось определение основных закономерностей проявления токсического эффекта хлорида цинка на клетки красного костного мозга в первые трое суток после воздействия.

В эксперименте принимали участие цыплята-бройлеры кросса «Смена-7». Однократно им внутрибрюшинно вводили хлорид цинка в дозах 40 мг/кг и 60 мг/кг массы животного. Материал для электронно-микроскопического исследования брали через одни и трое суток. Для ультратонкого исследования костный мозг фиксировали в 2,5 %-ном растворе глютаральдегида на фосфатном буфере с последующей часовой дофиксацией 1 %-ным раствором OsO_4 на том же буфере. После обработки насыщенным раствором уранилацетата на 70 %-ном этаноле материал обезвоживали в спиртах восходящей крепости и заключали в эпон. Ультратонкие срезы изучали на просвечивающем электронном микроскопе JEM – 100 CX II (фирма JEOL, Япония).

Через 1 сутки после цинковой интоксикации цыплят даже в дозе 40 мг/кг во многих клетках костного мозга выявлялись признаки выраженных структурных изменений. Стромальные ретикулярные клетки костного мозга подвергались дистрофическим изменениям. В цитоплазме определялись единичные набухшие митохондрии с разрушающимися кристами и мелко вакуолизированным митохондриальным матриксом, различные везикулы и пузырьки. В ядрах хроматин частично разрушался,

хотя форма ядер не изменялась, оставаясь округлой или несколько удлиненной.

В макрофагах костного мозга цитоплазма была неоднородной, с большим количеством различной электроноплотности крупных и мелких округлых включений, многочисленных пузырьков. Большинство органелл в цитоплазме макрофагов не просматривалось. Перинуклеарные пространства в клетках были несколько расширены. Гетерохроматин в ядрах макрофагов подвергался деградации, в кариоплазме он определялся в виде округлых и расплывчатых темных островков. У большинства макрофагов отростки цитоплазмы как таковые отсутствовали. Клетки принимали округлую форму, что свидетельствовало о снижении их функциональной активности. Цитоплазма перегружалась остаточными тельцами. Иногда в эритробластических островках среди эритробластов выявлялись макрофаги с опустошенной светлой цитоплазмой, содержащей единичные обрывки разрушившихся органелл (рис.1).

Рисунок 1 – Ультраструктура макрофага среди эритробластов в костном мозге цыпленка через 1 сутки после цинковой интоксикации в дозе 40 мг/ кг. Электронограмма. Увел.Х14000.

В эритробластах и эритрокариоцитах эритробластических островков, окружающих эти макрофаги, также определялись морфологические изменения (рис. 2). Подвергались деструкции рибосомы и полирибосомы, единичные митохондрии, часто гомогенизировалась цитоплазма.

У некоторых клеток перинуклеарные пространства расширялись. Клетки были или вытянутой формы, или имели разнообразные очертания вместо округлой формы в норме.

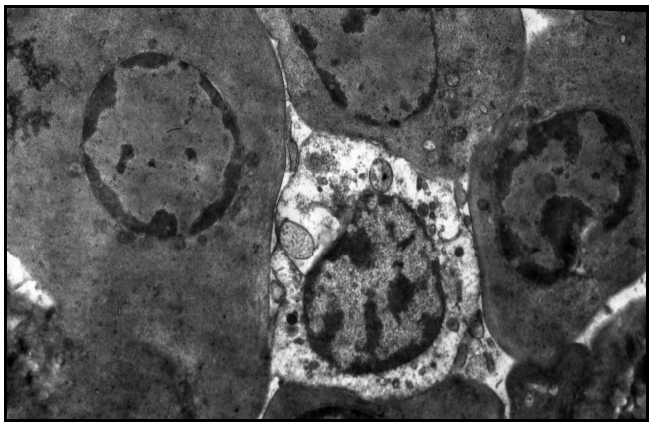

Рисунок 2 – Деструкция рибосом и полирибосом, митохондрий, гомогенизация цитоплазмы эритробластов и эритрокариоцитов в костном мозге цыпленка через 1 сутки после цинковой интоксикации в дозе 40 мг/кг. Электронограмма. Увел.Х7200.

Во многих ядрах эритробластических клеток, большей частью по периферии, определялся в большом количестве гетерохроматин, который сильно уплотнялся по внутренней стороне кариолеммы. В отдельных эритрокариоцитах ядра уменьшались в размерах, уплотнялись и подвергались кариопикнозу (рис.3). В костном мозге наблюдалось увеличение количества базофильных эритрокариоцитов, безъядерных ретикулоцитов и уменьшение гемоглобинизированных форм эритроцитов.

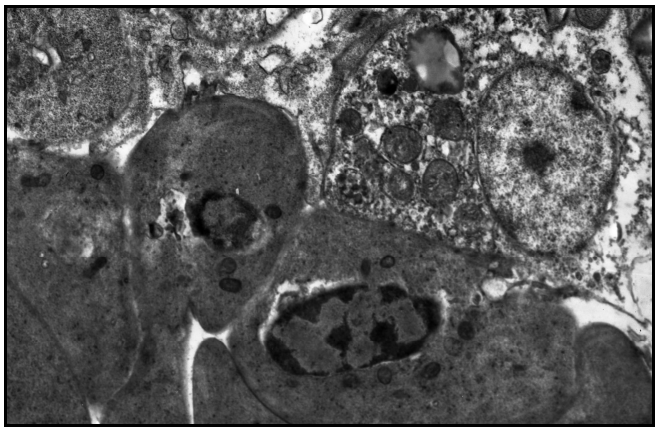

Рисунок 3 – Кариопикноз ядра эритрокариоцита в костном мозге цыпленка через 1 сутки после цинковой интоксикации в дозе 40 мг/кг. Электронограмма. Увел.Х7200.

Клетки моноцитоидного ряда костного мозга также имели морфологические изменения. Так, в промоноцитах хотя и частично сохранялись органеллы в цитоплазме, но в ядре хроматин несколько гомогенизировался, изменялась форма ядра, появлялись небольшие выпячивания кариолеммы в цитоплазму. В клетках моноцитоидного ряда разрушались органеллы в цитоплазме, вследствие этого она вакуолизировалась, или определялся выраженный отек перинуклеарного пространства, а часть органелл при этом сохранялась. Выявлялись также

зрелые моноциты с более темной цитоплазмой и ядром, по кариолемме которого определялась плотная полоса гетерохроматина. В цитоплазме зрелых моноцитов определялись короткие каналы гранулярного эндоплазматического ретикулума (ГЭР), округлые темные митохондрии, много рибосом и полирибосом, выявлялись маленькие округлые лизосомы, был хорошо выражен пластинчатый комплекс Гольджи.

Клетки гранулоцитарного ряда имели разнообразные изменения, хотя некоторые промиелоциты сохраняли свою структуру. Последние клетки были несколько овальной формы, с крупным овальным или почковидным ядром с небольшим количеством периферического гетерохроматина, иногда одним-двумя ядрышками. Цитоплазма обширна, содержала иногда, кроме мелких митохондрий, пластинчатый КГ с прилежащими центриолями, округлые цистерны ГЭР, множество свободных рибосом и полирибосом. В цитоплазме отдельных промиелоцитов проявлялись дистрофические изменения в виде деструкции крист в митохондриях и расширения перинуклеарного пространства (рис. 4). В более зрелых гранулоцитах из-за их деструкции не дифференцировались органеллы в цитоплазме, специфические гранулы в клетках теряли свою типичную структуру и становились разной плотности и разных размеров. Иногда в цитоплазме клеток выявлялись большие светлые вакуоли, различные мультивезикулярные тельца. Зрелых гранулоцитов с полностью сохранившейся структурой было мало.

Лимфоциты почти при полной сохранности ядра имели широкую цитоплазму с выраженными дистрофическими изменениями в виде разрушения внутриклеточных органелл, просветления и расширения ее участков. Клетки формировали выпячивания цитоплазмы разных размеров.

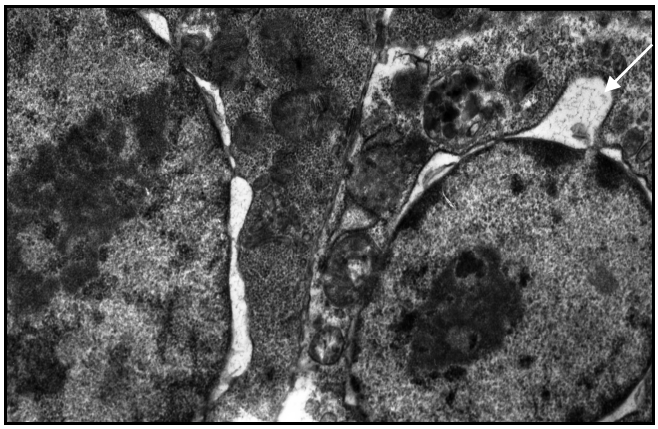

Рисунок 4 – Деструкция органелл и расширение перинуклеарного пространства промиелоцита (справа) в костном мозге цыпленка через 1 сутки после цинковой интоксикации в дозе 40 мг/кг. Электронограмма. Увел.Х14000.

Через 3 суток после свинцовой интоксикации цыплят в дозе 40 мг на кг деструктивные процессы в клетках костного мозга усиливались. Дистрофическим изменениям подвергались как кроветворные клетки, так и стромальные клетки костного мозга. Наименее выраженные изменения клеток проявлялись в частичном разрушении крист в митохондриях, относительно слабом расширении каналов ГЭР и вакуолизации цитоплазмы. Также иногда клетки формировали различные выпячивания цитоплазмы. Наиболее выраженные морфологические изменения клеток заключались в полной деструкции органелл, в формировании вместо них гетерогенных липидных включений, выраженной вакуолизации цитоплазмы, в сильном расширении перинуклеарного пространства. Эти изменения больше касались зрелых форм кроветворных клеток (рис. 5). Хотя и в стромальных ретикулярных клетках определялась деструкция внутриклеточных органелл, иногда даже с формированием липидных включений. В ретикулярных стромальных клетках увеличивалось количество гетерогенных фаголизосом.

Клетки гранулоцитарного ряда трудно дифференцировались из-за деструктивных изменений в цитоплазме, предположить, что это сегментоядерный нейтрофил можно было по косвенным признакам, например, по содержанию в клетке нескольких ядерных сегментов.

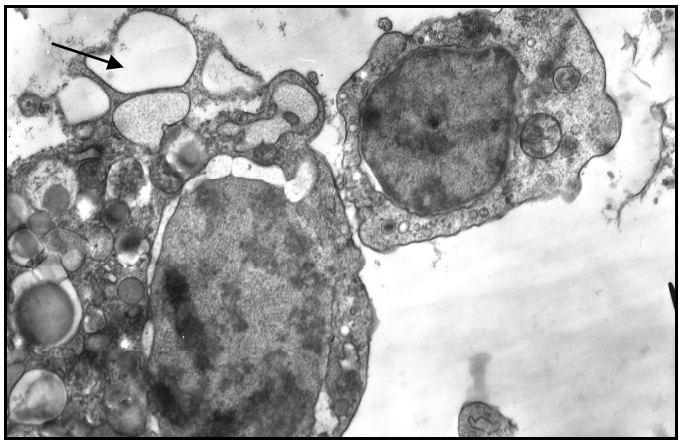

Рисунок 5 – Деструкция органелл, вакуолизация цитоплазмы, разрушение хроматина в ядре клетки костного мозга цыпленка через 3 суток после цинковой интоксикации в дозе 40 мг/кг. Электронограмма. Увел.Х7200.

Наиболее узнаваемы были клетки эритроидного ряда. Хотя в эритробластах и эритрокариоцитах также определялись патоморфологические изменения. Подвергались деструкции рибосомы и полирибосомы, разрушались митохондрии. Эритроидные островки распадались на отдельные клетки, то есть терялась их связь с ретикулярными клетками. В ядрах клеток разрушался гетерохроматин. В отдельных эритрокариоцитах ядра уменьшались в размерах, уплотнялись и подвергались кариопикнозу или кариолизису. В костном мозге выявлялось уменьшение гемоглобинизированных форм эритроцитов.

Фигуры митоза не определялись. Иногда встречались бластные молодые клетки с почти полностью сохранившейся структурой. В их цитоплазме сохранялись рибосомы, только в митохондриях отдельные кристы разрушались. Ядро клетки сохраняло свою форму и размеры. Встречались промоноциты с относительно нормальной ультраструктурой. В их цитоплазме определялись короткие каналы ГЭР, округлые темные митохондрии, много рибосом и полирибосом, различных пузырьков и везикул, выявлялись маленькие округлые лизосомы, был хорошо выражен пластинчатый комплекс Гольджи.

Нужно отметить, что в большинстве клеток патологические изменения касались ядерного материала. Даже в клетках с сохранившейся структурой цитоплазмы часто исчезал гетерохроматин, менялось строение

ядрышек, они принимали причудливые формы, и иногда как бы растворялись в кариоплазме.

При повышении концентрации цинка (60 мг/кг) через 1 сутки выявлялись дистрофические изменения клеток костного мозга примерно такие же, как и в группе цыплят при интоксикации в дозе 40 мг через сутки.

В цитоплазме стромальных клеток костного мозга вместо органелл большей частью выявлялись различные везикулы, пузырьки и вакуоли, а в некоторых при сохранности отдельных органелл цитоплазма становилась гомогенной. Во многих ядрах клеток хроматин частично разрушался и распределялся неравномерно.

В макрофагах костного мозга цитоплазма была неоднородной. Большинство органелл в ней не просматривалось.

Макрофагальные клетки крупных размеров содержали большое количество различной электроноплотности крупных и мелких гетерогенных включений, многочисленные пузырьки и вакуоли. Хроматин в ядрах макрофагов подвергался деградации, гетерохроматин определялся в небольшом количестве по внутренней стороне кариолеммы. Клетки принимали округлую форму, что свидетельствовало о снижении их функциональной активности.

Морфологические изменения выявлялись в эритробластах и эритрокариоцитах. В них подвергались деструкции митохондрии, рибосомы и полирибосомы, гомогенизировалась цитоплазма. Клетки вытягивались, деформировались, становились несколько удлиненными. В ядрах клеток разрушался хроматин. Уменьшалось количество гемоглобизированных форм эритроцитов.

Среди незрелых клеток миелоидного ряда встречались промегакариоциты, представленные в виде крупных клеток, 15-25 мкм в диаметре, с 2-3 ядрами. Выраженных нарушений в них не обнаруживалось.

В цитоплазме располагались мелкие круглые митохондрии, короткие цистерны ГЭР, свободные рибосомы и полисомы, в периферийной зоне просматривались демаркационные трубочки.

Клетки гранулоцитарного ряда имели разнообразные изменения в виде деструкции митохондрий и других органелл, расширения перинуклеарного пространства, разрушения в цитоплазме специфических гранул, их расплавления, вакуолизации цитоплазмы, иногда даже расплавления ядерных фрагментов (рис. 6).

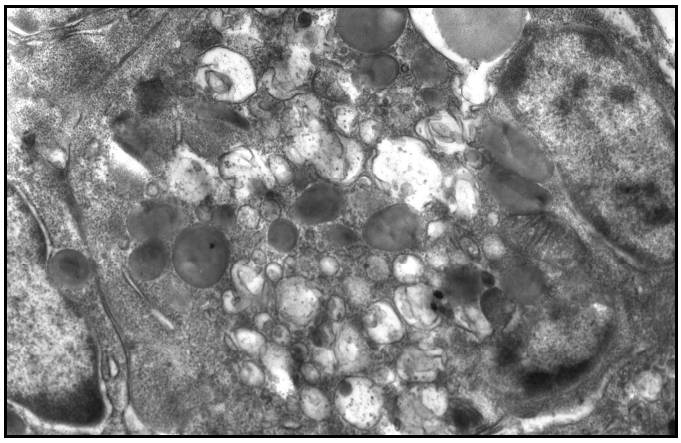

Рисунок 6 – Деструкция органелл в цитоплазме гранулоцита в костном мозге цыпленка через 1 сутки после цинковой интоксикации в дозе 60 мг на кг. Электронограмма. Увел.Х10000.

Клетки моноцитарного ряда костного мозга также имели морфологические изменения. Так, в промоноцитах расширялись перинуклеарные пространства и разрушались отдельные органеллы в цитоплазме. В более зрелых клетках с темной цитоплазмой и ядром появлялись темные округлые, похожие на большие липидные капли включения.

Через 3 суток после цинковой интоксикации цыплят в дозе 60 мг/кг веса деструктивные изменения кроветворных и стромальных клеток костного мозга усиливались. Органеллы часто полностью разрушались или вакуолизировались, и в цитоплазме вместо них определялись гетерогенные включения или вакуоли.

В цитоплазме стромальных клеток костного мозга органелл было мало, определялись единичные набухшие митохондрии, различные везикулы и пузырьки, многочисленные гетерогенные включения. В ядрах

клеток хроматин уплотнялся по периферическим участкам. Кариолемма четко не просматривалась.

В макрофагах расширялись перинуклеарные пространства, цитоплазма перегружалась электроноплотными крупными и мелкими включениями, а в ядрах хроматин сильно уплотнялся. В эритробластических клетках подвергались деструкции рибосомы и полирибосомы, митохондрии, гомогенизировалась цитоплазма, в ядрах разрушался хроматин, ядра часто деформировались. В поле зрения увеличивалось количество ретикулоцитов.

Во многих бластных клетках расширялись перинуклеарные пространства, в кариоплазме начинал конденсироваться или разрушаться хроматин, ядрышки не выявлялись или определялся большей частью нитчатый компонент – нуклеолонема. В некоторых молодых клетках уплотнялась цитоплазма, в ней вакуолизировались или подвергались деструкции митохондрии, вместо них определялись липидные капли.

В молодых клетках гранулоцитарного ряда преобладали изменения отечного характера. В отдельных промиелоцитах в цитоплазме проявлялись дистрофические явления в виде деструкции крист в митохондриях, расширения перинуклеарного пространства, просветления специфических гранул и формирования внутри их мембраны светлой отечной полосы, а в более зрелых формах специфические гранулы набухали и сливались в крупные включения (рис.7). Определить клеточный тип зрелых гранулоцитов не представлялось возможным.

Встречались отдельные промоноциты с сохранившейся структурой. Клетки содержали крупные бобовидные ядра с эухроматином и одним-двумя ядрышками. Цитоплазма обширна, содержала, кроме овальных или округлых митохондрий, развитый КГ, короткие цистерны ГЭР, пузырьки и везикулы. В других промоноцитах начинали разрушаться митохондрии и

вместо них появлялись различные мультивезикулярные тельца, липидные включения.

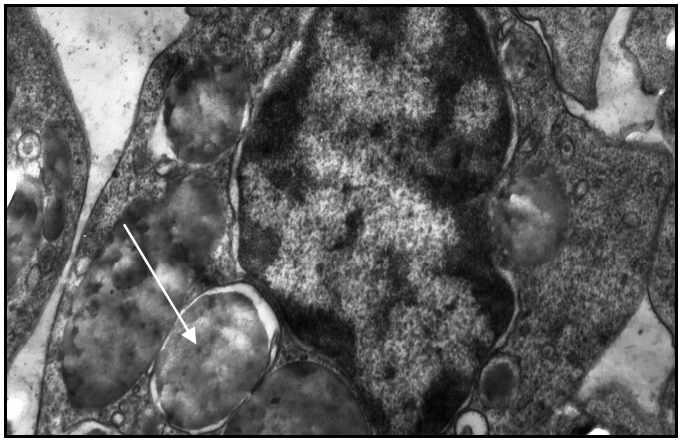

Рисунок 7 – Ультраструктура гранулоцита в костном мозге цыпленка через 3 суток после цинковой интоксикации в дозе 60 мг/кг. Электронограмма. Увел.Х14000.

После трехсуточной цинковой интоксикации цыплят при изучении препаратов костного мозга у большинства клеток, вне зависимости от того, к какому ряду относится та или иная клетка, обращали на себя внимание изменения структуры ядра. Они были разного характера: иногда это проявлялось в конденсации хроматина в ядре; иногда, наоборот, в разрушении хроматина и просветлении ядра, отделении нитчатого компонента ядрышка, разрушении ядрышек. В клетках нередко определялся кариопикноз – сморщивание ядра (рис. 8).

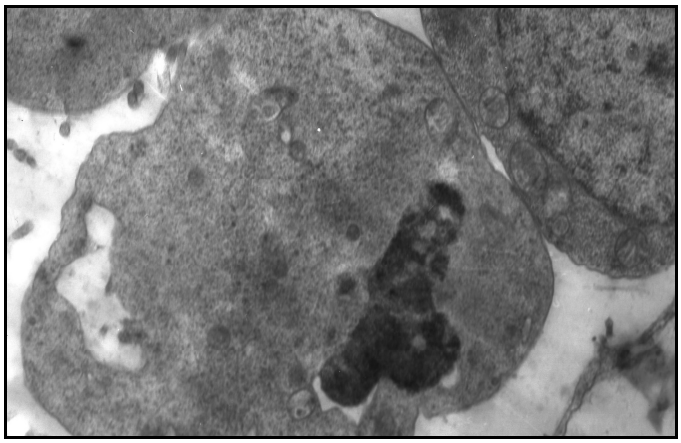

Рисунок 8 – Кариопикноз в клетке костного мозга цыпленка через 3 суток после цинковой интоксикации в дозе 60 мг на кг. Электронограмма. Увел.Х10000.

Таким образом, результаты исследования показали, свинцовое отравление цыплят даже в течение 1-3 суток ведет к повреждению клеток костного мозга. В цитоплазме кроветворных и стромальных клетках костного мозга выявляются большей частью признаки деструктивных

процессов, которые усиливаются по мере возрастания срока и дозы воздействия. При этом в костном мозге часто изменяется структура клеточных ядер. Выявляющиеся морфологические признаки свидетельствуют о снижении транскрибции генов рибосомных РНК клеток костного мозга. В костном мозге увеличивается число базофильных эритрокариоцитов и уменьшается количество гемоглобинизированных форм эритроцитов. Цинк большей частью вызывает нарушения морфо-функциональных структур в эритробластах и зрелых клетках других линий клеток костного мозга (Вишняков А.И., 2009). При увеличении дозы хлорида цинка нами установлены более глубокие изменения в красном костном мозге у птицы.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бегалиев А.Б. Генетические эффекты ионов металлов. – Алма-Ата, Наука, 1986. 132 с.

2. Вишняков А.И. Электронно-микроскопические особенности костномозгового кроветворения птиц // Вестник Оренбургского государственного университета. 2009. № 12. С. 81 – 84.

3. Гигиеническая диагностика загрязнения среды обитания солями тяжелых металлов / Б.В. Лимин, В.Г. Маймулов, И.О. Мясников, А.В. Пацюк, А.В. Скальный, Т.С. Чернякина // СП.: СПбГМА им И.И. Мечникова, 2003. 123 с.

4. Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия. – Л.: Медицина, 1986. 280 с.

5. Красовский Г.Н., Соколовский В.В. Генетические эффекты тяжелых металлов // Гигиена и санитария. 1979. № 9. С. 56 – 59.

6. Романенко А. А. Применение природных сорбентов при ведении молочного скотоводства в техногенных условиях: монография. Брянск: Издательство БГСХА. 2010. 147 с.