

Ионы кальция как важное звено в нейротоксическом действии кадмия

Выполнила Авилкина Светлана

IV курс (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,
Биологический факультет, кафедра клеточной биологии и гистологии,

Москва, Россия

E-mail: nilafin@gmail.com

Источники кадмия в окружающей среде

- Цинковые, свинцовые и медные руды
- Гальванические элементы
- Табачный дым
- Вода и пища

Научная проблема

Обнаружен
о

Некоторые механизмы воздействия кадмия, в частности участие в этом ионов кальция в корковых нейронах

Положительное влияние антиоксидантов на выживаемость нейронов

Неизвестн
о

Точный механизм нейротоксичного действия кадмия и конкретная роль ионов кальция

Безопасный метод лечения кадмиевой интоксикации

Цели работы

Первый этап

- Выяснение роли кальция в повреждающем действии ионов кадмия с использованием в качестве модельной системы культивированные нейроны головного мозга.

Второй этап

- Исследование возможности снижения нейротоксичности кадмия

Задачи

Первый этап

- Оценка токсического влияния различных концентраций хлорида кадмия
- Исследование участия кальция в токсическом действии кадмия (анализ морфо-функциональных нарушений митохондрий, оценка изменения выхода кальция в цитоплазму)

Второй этап

- Исследование возможности снижения нейротоксичности кадмия с помощью антиоксиданта N-ацетилцистеин (НАС).

Методика

Объект: культивированные в течение 7 дней зернистые нейроны мозжечка крыс.

Методы:

- окрашивание трипановым синим для подсчета;
- использование флуоресцентного зонда Fluo-4 (Ca-связывающий);
- электронная микроскопия.

Токсичность кадмия в культуре зернистых нейронов мозжечка

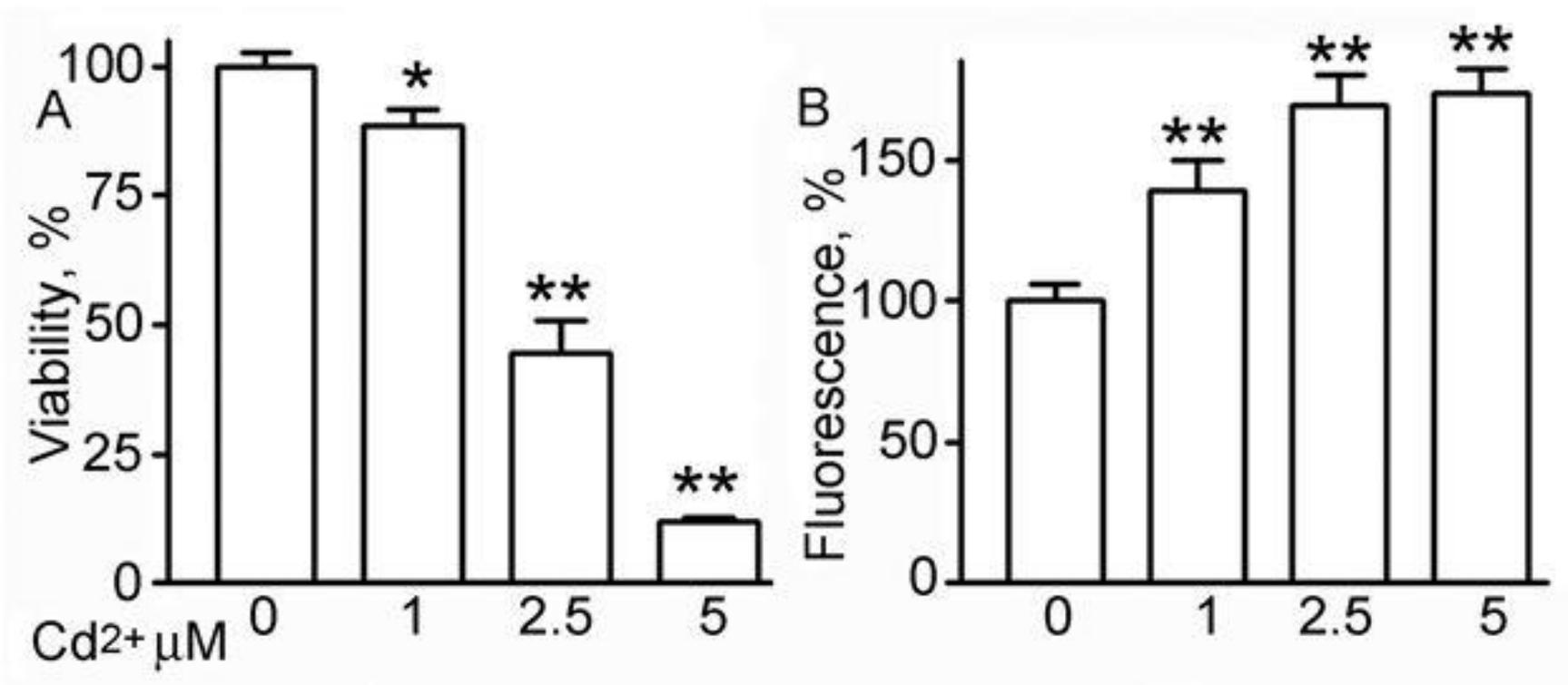


Рис.1. Зависимость (А) жизнеспособности культивируемых зернистых нейронов мозжечка (48 часов инкубации) и (В) увеличения флуоресценции Fluo-4 - Са-связывающий зонд (инкубация 24 часа) от концентрации ионов кадмия. Нейроны мозжечка из 7-дневных культур. ** Статистически значимое различие от контрольных значений $p < 0,01$, * $p < 0,05$.

НАС ослабляет токсическое действие кадмия в КЗН

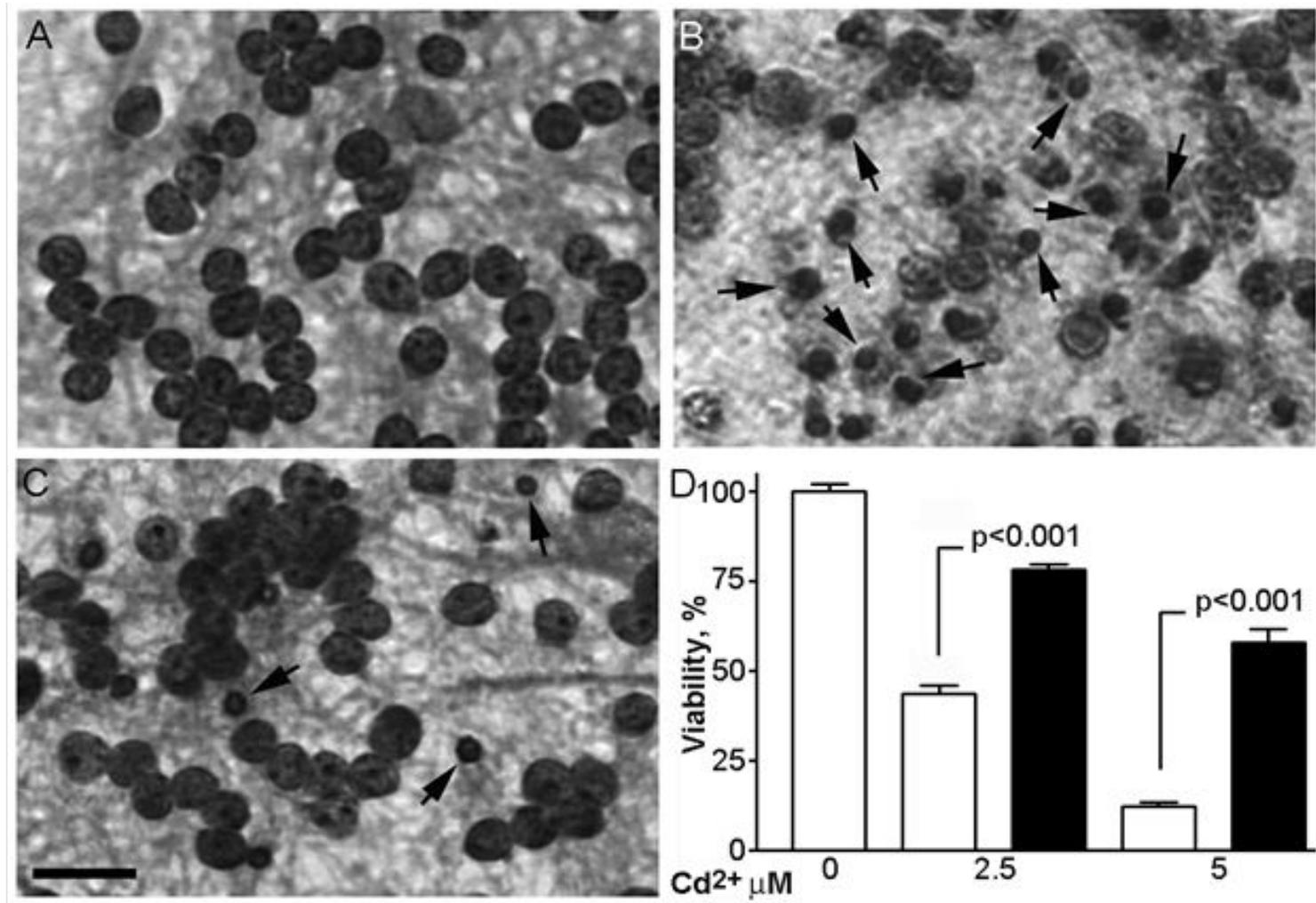


Рис. 2. Действие НАС (А - контроль, В - Cd, С - НАС + Cd) на инкубированные с кадмием КЗН в 7-дневных культурах. Пикнотические ядра обозначены стрелками. Окраска трипановым синим. Масштаб 15 мкм. (D) количественная оценка жизнеспособности нейронов. 1 mM НАС - черные колонки. Белые - без НАС.

НАС снижает уровень внутриклеточного кальция

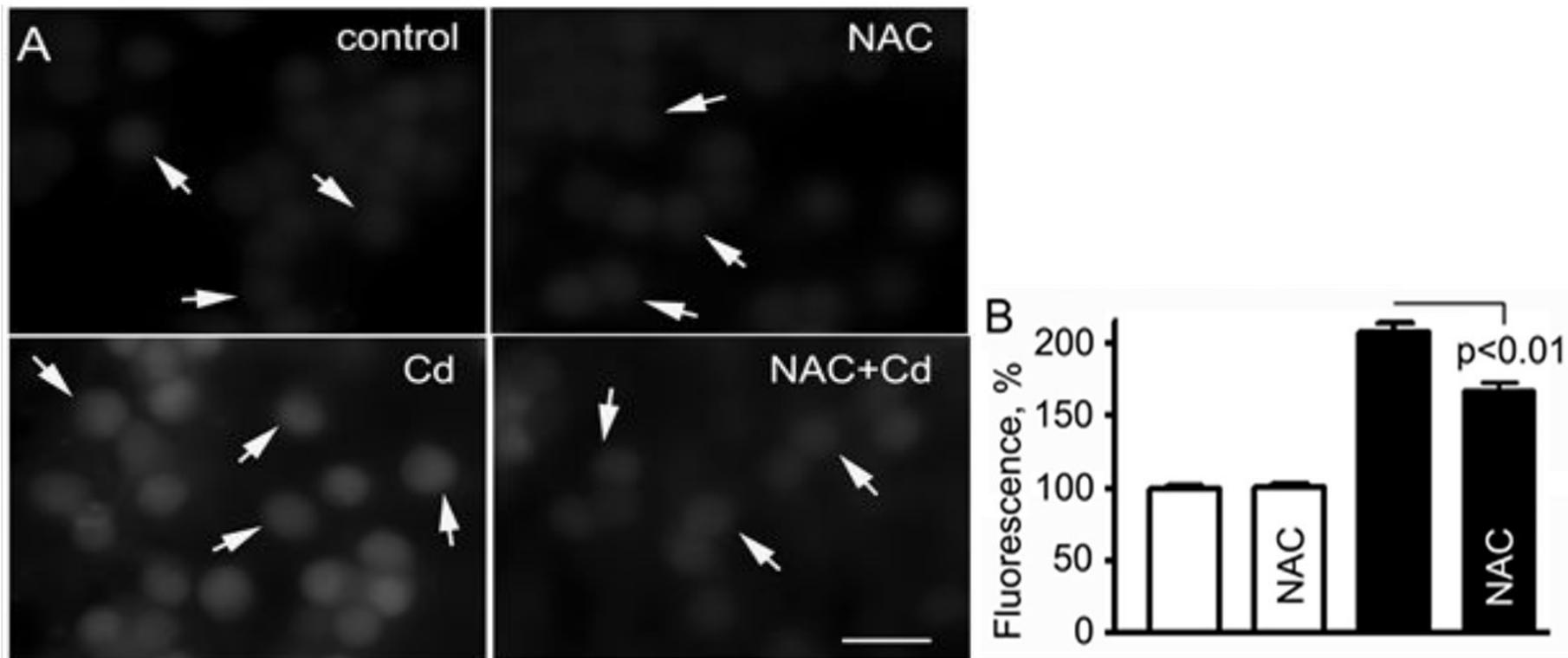


Рис. 3. Влияние 5 мкМ Cd^{2+} и 1 мМ НАС на внутриклеточную флуоресценцию Fluo-4. (А) культура живых клеток, флуоресцентная микроскопия. Внутриклеточный флуоресцентный сигнал внутри КЗН обозначается стрелками. Масштаб 15 мкм. (В) Количественная оценка флуоресценции Fluo-4 в клеточной культуре. Черные и белые полосы, с/без Cd^{2+} .

НАС ослабляет изменения структуры митохондрий

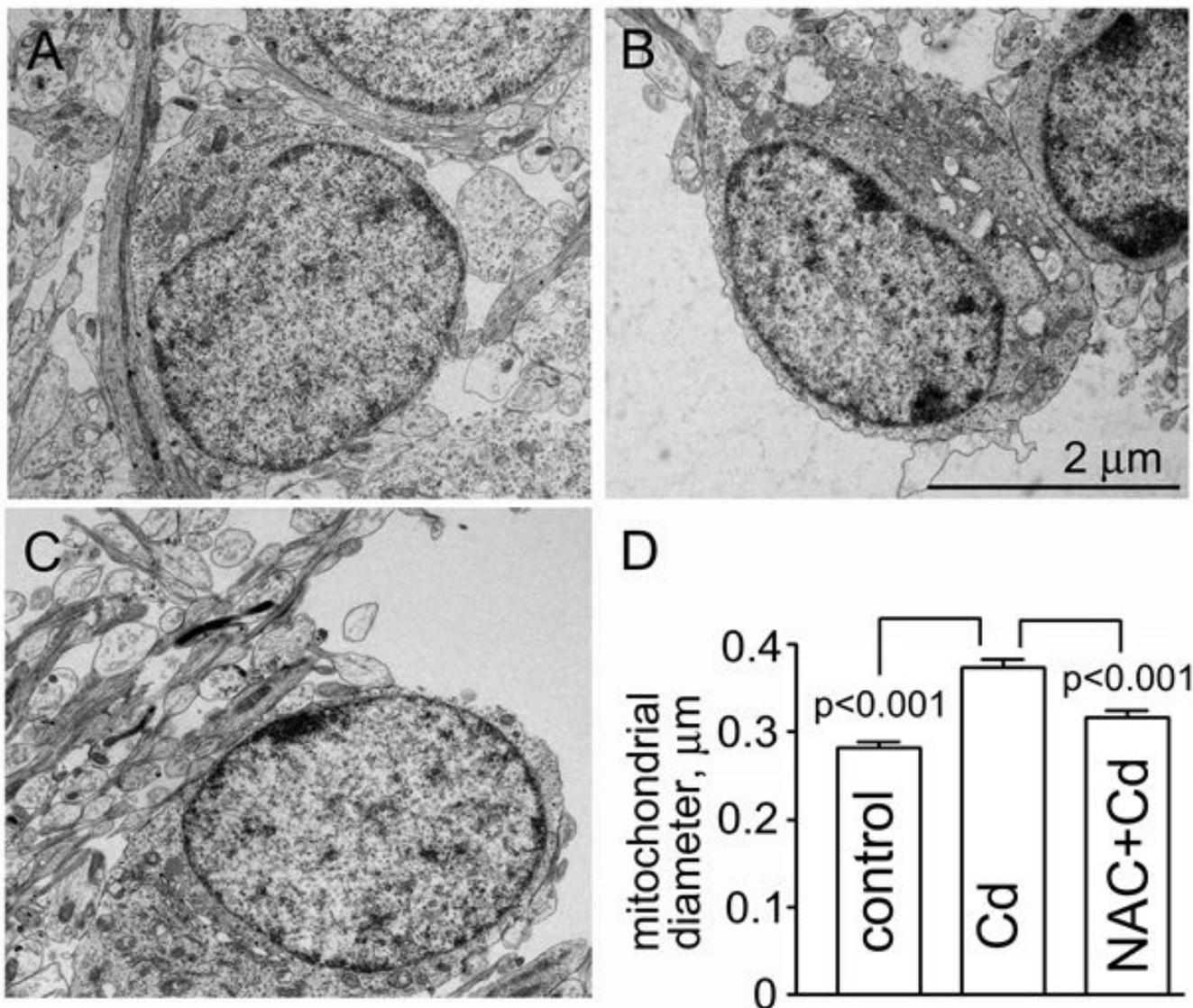
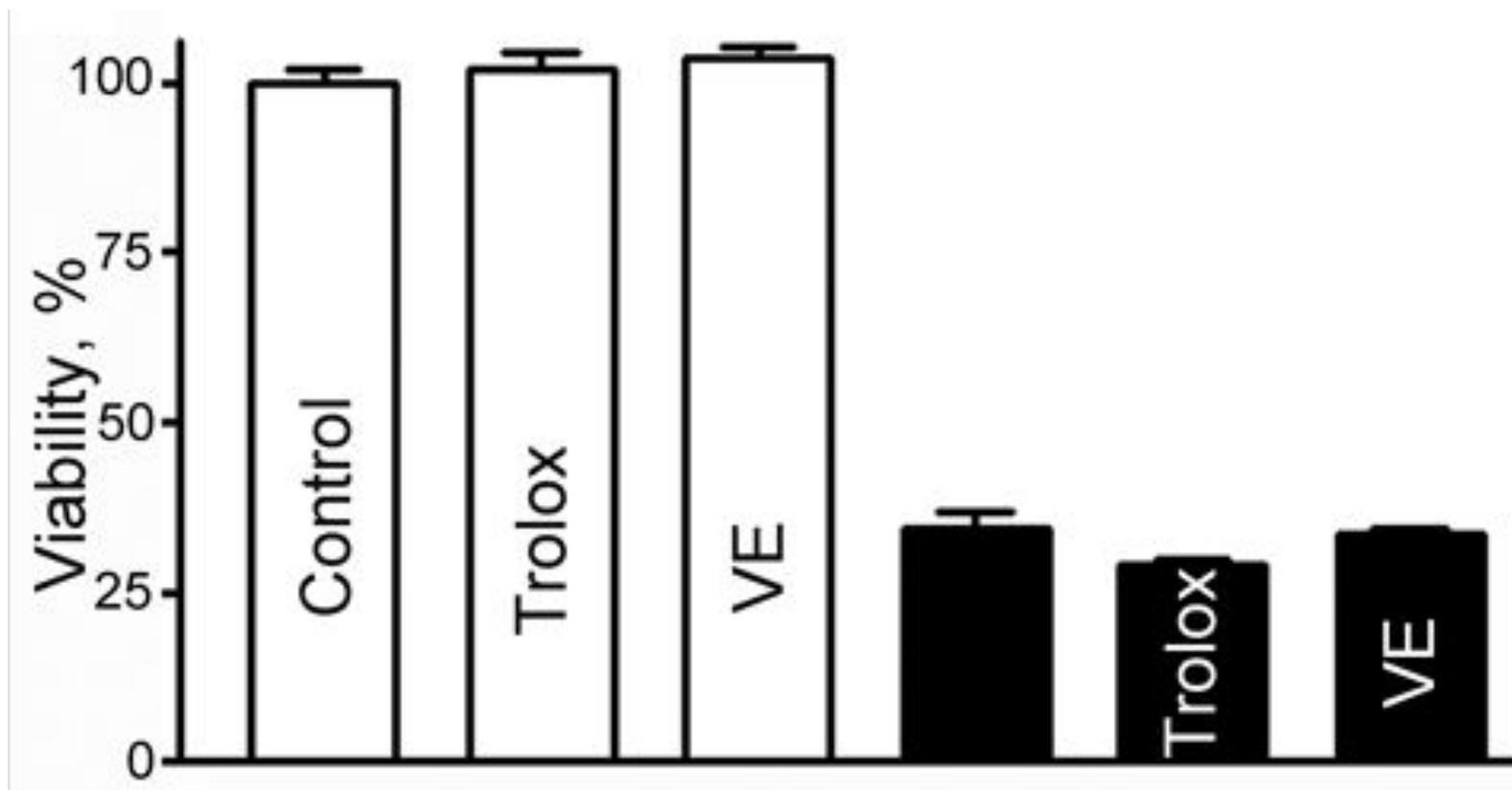


Рис. 4. Изменения в ультраструктуре митохондрий КЗН после воздействия CdCl₂ и НАС. Просвечивающая электронная микрофотография КЗН мозжечка (А) - контроль, (В) - CdCl₂, (С) - НАС + CdCl₂ (D) - средний диаметр митохондрий. Масштабная шкала 2 мкм. * Статистически значимое отличие от контроля, $p < 0,001$.

Выводы

1. Минимальная токсическая концентрация ионов кадмия для КЗН мозжечка крыс – 1 мкМ.
2. Показано возрастание концентрации кальция в цитоплазме при увеличении концентрации кадмия.
3. Кадмиевая интоксикация вызывает ультраструктурные изменения митохондрий.
4. НАС защищает нейроны от цитотоксического действия кадмия, предотвращает их кальциевую перегрузку и сохраняет морфологию митохондрий.

Исследование других антиоксидантов



Антиоксиданты 100 мкМ Trolox и 500 мкМ витамина E (VE) не влияют на выживаемость КЗН во время цитотоксической активности Cd²⁺. Черные столбцы: с Cd²⁺ (5 мкМ, 48 ч).

