

Ультраструктура кардиомиоцитов при действии малых доз фтора

Военно-медицинская академия им С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Резюме. Рассматривается длительное воздействие малых доз фтора на ультраструктуру кардиомиоцитов. Эксперимент выполнен на крысах линии «Вистар», которым на протяжении 1 месяца внутрибрюшинно вводили водный раствор фторида натрия в дозе 0,5 мг/кг. Электронно-микроскопически установлены: расширение терминальных цистерн, деструкция мембран сарколеммы и формирование патологических соустьев между цистернами и интерстицием, секвестрация детрита в межклеточное пространство; расширение щелей, лизис мембран и уменьшение численной плотности нексусов вставочных дисков; влажный лизис миофиламентов; уменьшение количества десмосом и «расплетание» интердигитирующих контактов эндотелиоцитов кровеносных капилляров; подавление способности к образованию секреторных гранул эндокринных кардиомиоцитов; повреждение ядерного аппарата в виде отслоения наружного листка ядерной мембраны, лизис околоядрышкового хроматина, сепарация с доминированием фибриллярных форм, лизис и кольцевидная трансформация ядрышек, дислокация ядрышек в периферические отделы ядерного пространства и их фиксация с внутренним листком ядерной мембраны, конденсация и маргинация гетерохроматина, пикноз ядер; повышение активности аутофаголизосом с захватом частиц лизированных миофиламентов, дериватов распада органелл и ядер, а также миграция аутофагов в перинуклеарное пространство, щели вставочных дисков; распад цитоплазматических мембран и накопление миелиновых частиц в саркомерах и в интерстиции; гипертрофическое набухание митохондрий и повреждение крист; усиление миграционной активности митохондрий и транслокация их в ядра кардиомиоцитов и щели вставочных дисков. В патологоанатомическом понимании обнаруженные признаки лизиса миофиламентов есть влажный некроз кардиомиоцитов, механизм развития которого обусловлен замещающим накоплением гидроксильных радикалов, окислительным восстановлением водорода и в конечном итоге ощелачивающим действием фтора. Таким образом, при длительной интервенции малых доз фтора, включая и ятрогенные источники, необходимо учитывать риск развития токсической кардиомиопатии, и предпринимать меры, направленные на снижение фторной нагрузки.

Ключевые слова: фторид натрия, кардиомиоциты, электронная микроскопия, аутофаголизосомы, митохондрии, ядра, вставочные диски, миофиламенты, влажный некроз, распад цитоплазматических мембран, токсическая кардиомиопатия.

Введение. Кардиотоксические эффекты фтора стали предметом системного рассмотрения, в общем-то, не так давно – с конца 90-х годов прошлого века. До этого токсические эффекты фтора не признавались актуальными из-за его «хорошей репутации» как антикардиотоксического средства. Исходили из того, что в малых количествах фтор необходим, а как яд он действует лишь в высоких дозах, игнорируя его «обоюдоострые» свойства [6, 15]. Оказалось, что фтор, длительно действующий в предельно малых дозах на жителей напряженных по флюорозу регионов, вызывает диастолические дисфункции миокарда, снижает эластические свойства аорты и является значимым фактором риска артериальной гипертензии [3, 4, 24, 25]. Специфические для фтористой интоксикации гипокальци – и натремии с соответствующим удлинением электрической систолы обнаружены при банальном зубном флюорозе у детей, склонных к аритмическим обморокам [13]. В повышенных концентрациях фтор-ионы определяются в бляшках коронарных артерий и крупных сосудах, что ускоряет процессы стенозирования и увеличивает риски разрывов [9, 18]. Не менее важны

и ятрогенные источники поступления фтора в организм человека, когда назначение фторсодержащих препаратов является средством терапевтического выбора. Особое значение это имеет при лечении постменопаузального, стероидного и сопутствующего, например, при болезни Крона остеопороза, а также при назначении фторхинолонов. Тактика применения фторсодержащих лекарственных препаратов остается дискуссионной, но практически во всех случаях рекомендуется длительное (от полугода до нескольких лет) применение и в достаточно высоких (от 0,5 до 1 мг/кг/день) дозах [8, 16, 18]. Несмотря на подробно разработанную клиническую феноменологию кардиотоксических эффектов, тем не менее, морфогенез повреждения сердца фтором остается во многом не ясным.

Цель исследования. Установить ультраструктуру кардиомиоцитов при действии фторида натрия.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на моделях острой и хронической интоксикации фтором с вовлечением половозрелых самцов крыс

линии «Вистар» массой тела до 340 г. Протоколы экспериментов согласованы локальным этическим комитетом Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. Здоровые животные ($n=5$) составили 1-ю контрольную группу. Крысам 2-й группы ($n=15$), погруженных в эфирный наркоз, вводили внутрибрюшинно водный раствор фторида натрия в дозе 6 мг/кг фтор-ионов. Это 1,5-летальная доза фтора и животные, не выходя из наркоза, погибали в течение 3 ч. За 30 мин до наступления летального исхода производили регистрацию электрокардиограммы (ЭКГ), используя электрокардиограф «ЭКТ1» с игольчатыми электродами, в положении крыс на спине, в фазе релаксации поверхностного эфирного наркоза с записью 20 желудочковых комплексов в I, II, и III стандартных отведениях. Крысам 3-й группы ($n=15$) вводили водный раствор фторида натрия внутрибрюшинно в дозе 0,5 мкг/кг/день, что составляет половину дозы, которая используется при назначении фторсодержащих препаратов. Продолжительность эксперимента составила 1,5 месяца. В хроническом эксперименте животных содержали на стандартной диете при свободном доступе к воде. По окончании эксперимента животных, находившихся в состоянии поверхностного эфирного наркоза, подвергали эктаназии, согласно Федеральному закону от 03.02.2003 № 86 «О лекарственных средствах» [2]. Тотчас выделяли сердце, рассекали его и погружали для предварительной фиксации в охлажденный раствор 4% глютарового альдегида. После префиксации сердце разделяли на анатомические отделы, взвешивали части и рассчитывали весовые желудочковые индексы по Мюллеру [1]. Морфологические исследования проводили с использованием трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ). Для этого из ушка правого предсердия, правого и левого желудочков вырезали образцы объемом до 1 мм³. Окончательную фиксацию проводили в 1% осмиевой кислоте. Тканевые блоки заливали в аралдит. Ультратонкие срезы изучали в электронном микроскопе «JEM-100SX».

Результаты и их обсуждение. У крыс 2-й группы летальный исход происходил на фоне достоверных

($p<0,5$) отклонений показателей ЭКГ в виде: брадикардии до 387 ± 11 уд/мин (в контроле – 455 ± 14 уд/мин), удлинения интервала Q–T до 90 ± 3 мс (в контроле – 66 ± 4 мс) и поворота угла электрической оси сердца вправо до 69 ± 2 град (в контроле – 43 ± 4 град). В хроническом эксперименте у крыс 3-й группы достоверно ($p<0,05$) снижена масса тела до 320 ± 12 г (в контроле 362 ± 14 г) и повышен желудочковый индекс до $0,56\pm 0,05$ у. е. (в контроле – $0,41\pm 0,04$ у. е.) за счет увеличения относительной массы правого желудочка. На ЭКГ выявлены увеличение времени атриовентрикулярной проводимости до 54 ± 3 мс (в контроле – 42 ± 2 мс), поворот угла электрической оси сердца вправо (69 ± 2 град), удлинение интервала Q–T (87 ± 5 мс). Результаты кардиограмметрии и ЭКГ в остром и в хроническом экспериментах свидетельствуют о перегрузке правых отделов сердца и легочной гипертензии. При этом нарушение деятельности сердца происходит на фоне характерного для фтористой интоксикации удлинения интервала Q–T.

Электронно-микроскопически установлено расширение цистерн Т-системы в кардиомиоцитах всех отделов сердца. Морфологически расширенные цистерны представлены крупными зонами эктазии, располагающимися между истонченными пучками миофиламентов (рис. 1).

Расширяются цистерны и вблизи ядер кардиомиоцитов, сдавливая перинуклеарное пространство. Вне очагов сдавливания наружный листок ядерной мембраны подвергается выпячиванию, что морфологически схоже с буллезной трансформацией по типу «медвежьих ушек». В расширенных цистернах накапливаются резидуальные тельца в виде полиморфных продуктов распада органелл и цитоплазматической мембраны (рис. 2).

Расширенные цистерны деформируют саркомеры: дезорганизуют взаимоотношения диад с I-дисками, разупорядочивают мембранный комплекс аппарата Гольджи, образуют патологические соустья с перинуклеарным пространством и аутофаголизосомами. В расширенные цистерны устремляются митохондрии. Значительная часть патологически

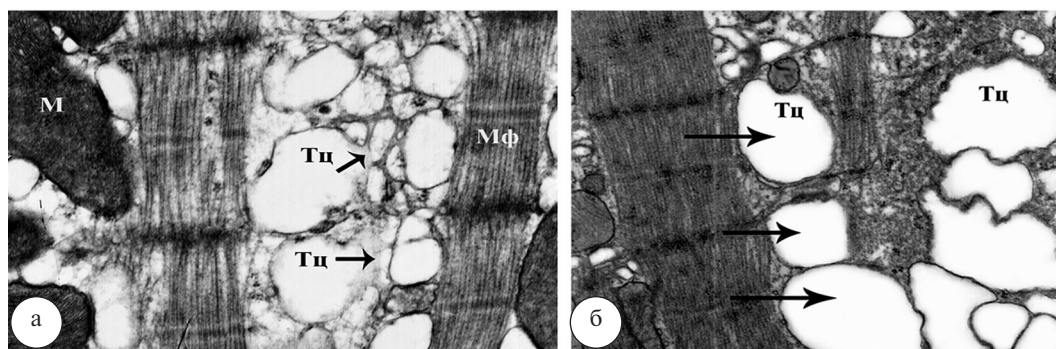


Рис. 1. ТЭМ сердца крысы, подвергнутой действию фтора: а – дефекты сарколеммы в расширенных Т-цистернах (стрелки); б – расширенные Т-цистерны (стрелки); Тц – цистерны; М – митохондрии; Мф – миофиламенты. Ув. $\times 28000$

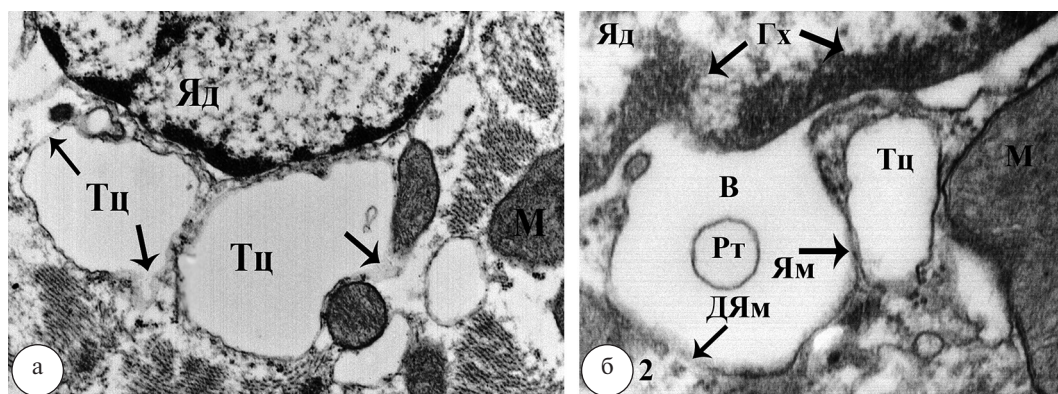


Рис. 2. ТЭМ сердца крысы, подвергнутой действию фтора: а – сдвиг перинуклеарного пространства, стрелками указаны дефекты сарколеммы; б – буллезное выпячивание наружного листка ядерной мембраны; Ям – наружный листок ядерной мембраны; ДЯМ – дефект ядерной мембраны; В – буллезное выпячивание ядерной мембраны; Тц – цистерны; Рт – резидуальное тельце; М – митохондрия. Ув. $\times 28000$

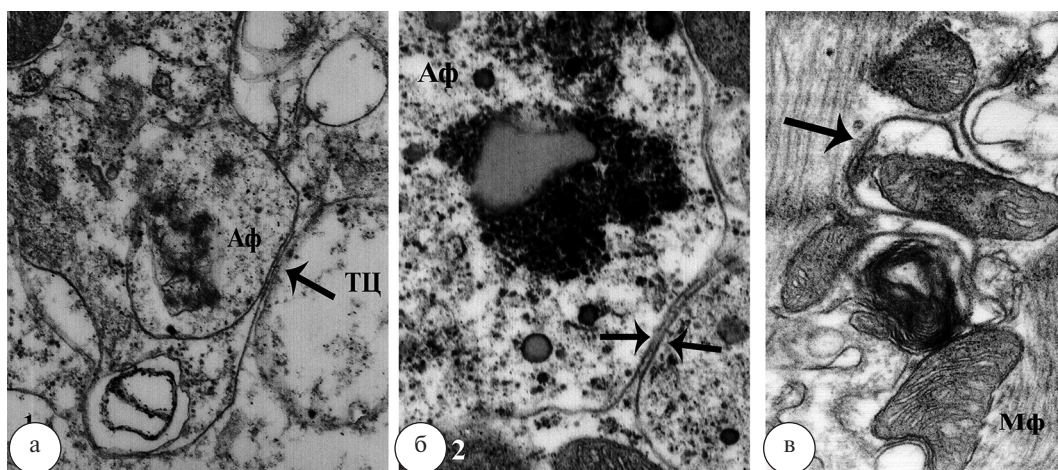


Рис. 3. ТЭМ сердца крысы, подвергнутой действию фтора: а – аутофаголизосома, содержащая остатки ядра; б – гигантская многокамерная аутофаголизосома; в – пенетрация митохондрии с поврежденными кристами в полость расширенной Т-цистерны; Аф – аутофаголизосома; Л – лизосома; Тц – цистерна; Мф – миофиламенты. Ув. $\times 28000$

измененных цистерн сливается с гигантскими многокамерными аутофаголизосомами и через дефекты в сарколемме секвестрируют в интерстиций детрит (рис. 3).

Все это свидетельствует о выраженных мембранотропных эффектах фтора, которые, по-видимому, обусловлены его способностью модифицировать состав и структуру мембранных липидов. Под воздействием фтора на фоне роста концентрации перекисных форм липидов и малондиальдегида, уменьшается количество фосфатидилэтаноламина, фосфатидилхолина и фосфатидилсерина. При этом в составе липидов уменьшается пропорциональное содержание полиненасыщенных жирных кислот [12, 21, 22, 27]. Накопление перекисных форм липидов поддерживается подавлением антиокислительных ферментов: супероксиддисмутазы, каталазы и пероксидазы глутатиона [17, 20]. Это масштабный эффект, наблюдаемый не только в тка-

нях сердца, печени и почек при непосредственном действии фтора на организм, но и проявляющийся подобным же образом в ближайшем потомстве [7]. Уменьшение количества ненасыщенных жирных кислот снижает химическую активность, трансформирует форму молекул углеводов – удлиняет (в ограниченном пространстве цитоплазматических мембран это способствует их расслоению), выпрямляет, делает разветвленные молекулы механически более ригидными, и в целом, сдвигает фазовые переходы мембранных липопротеидов в сторону увеличения количества твердых фракций. Это сопровождается изменением фундаментальных физико-механических свойств мембран: неизбежно уменьшаются поверхностное натяжение и смачиваемость. Мембраны начинают сморщиваться и поверхность гидрофобизируется. Известно, что фтор обладает высоким химическим сродством к кальцию, с которым он необратимо связывается в

форме кристаллизующегося CaF_2 . С одной стороны, это способствует развитию тканевого дефицита кальция и нарушению реполяризации в желудочках сердца, что верифицируется на ЭКГ в виде удлинения интервала Q–T. А с другой – осаждающиеся наночастицы фторида кальция охрупчают мембраны эндоплазматического ретикулума. На фоне уменьшения эластичности хрупких и ломких мембран сжатие осложняется растрескиванием и разрывами. Фтор агрессивный ингибитор мембранных Na-K-АТФаз. Это значит, что трансмембранный поток, прежде всего, натрия подавляется, и он вместе с водой задерживается в полостях, что ведет к расширению терминальных цистерн и гипонатриемии.

В кардиомиоцитах всех изученных отделов сердца активированы аутофаголизосомы. Морфологически они имеют характерный вид – это крупные частицы, окруженные двойной мембраной, большая часть которых содержит лизосомы везикулярного

типа, часто ассоциированные с митохондриями. В зоне активных лизосом накапливаются резидуальные тельца в виде миелоноподобных частиц, что свидетельствует об активной роли лизосом в повреждении и распаде мембранопроизводных органелл (рис. 4).

Фтор увеличивает выход белков Beclin 1 и LC3, что свидетельствует о дерепрессии связанных с аутофагией генов [28]. И это имеет защитное значение, так как при активации аутофагов кардиомиоциты становятся более устойчивыми к действию апоптотических факторов [10]. Выявленное повышение активности аутофагов свидетельствует о том, что при длительной фторной нагрузке в кардиомиоцитах срабатывает цитопротекторная направленность биохимических стратегий.

В миокарде крыс, подверженных хроническому действию фтора, наблюдается дезорганизация вставочных дисков. Количество поврежденных дисков воз-

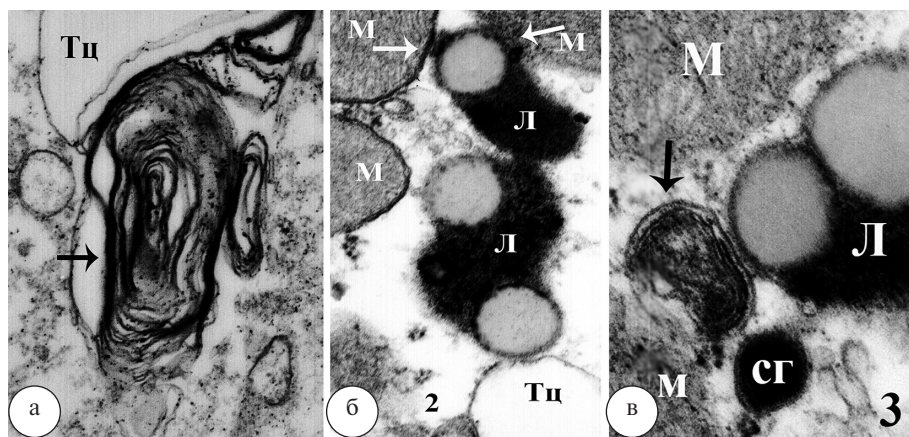


Рис. 4. ТЭМ сердца крысы, подвергнутой действию фтора: а – миелоноподобная частица, контактирующая с Т-цистерной; б – лизосомы, контактирующие с мембранами митохондрий; в – миелоноподобная частица, контактирующая с митохондрией и лизосомой; Л – лизосома; М – митохондрия; Тц – цистерна. Ув. $\times 28000$

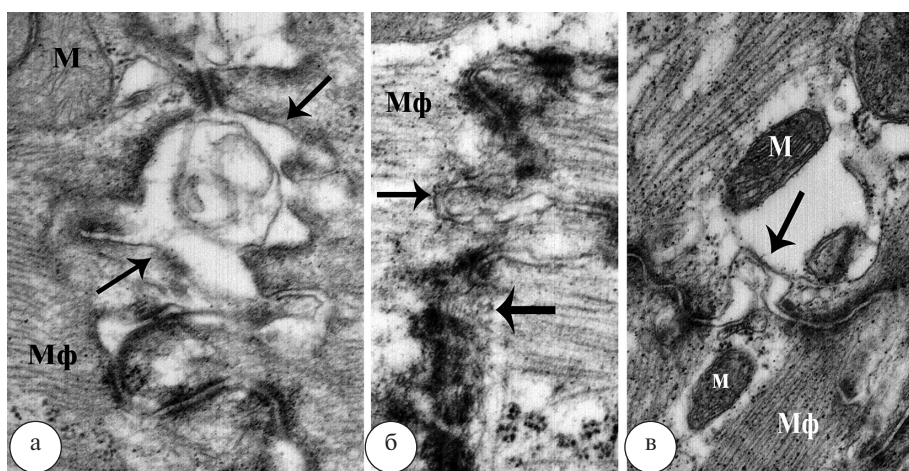


Рис. 5. ТЭМ сердца крысы, подвергнутой действию фтора: а – расширение щелевого контакта; б – лизис мембран и детрит в зоне вставочного диска; в – «атакующее» положение митохондрий в зоне поврежденного вставочного диска; Мф – миофиламенты; М – митохондрия. Ув. $\times 28000$

растает до 7–9%. Дезорганизация дисков происходит, по-видимому, путем частичного лизиса контактирующих мембран, расслоения и расширения щелевых контактов, а также численной редукции коннексинов. В зонах деструкции накапливаются миелопоподобные частицы и концентрируются митохондрии и аутофаголизосомы, которые занимают как бы «атакующее» положение (рис. 5).

Важным элементом деструкции миокарда при действии фтора является лизис миофиламентов, что согласуется с данными об увеличении концентрации тропонина Т в аналогичных стендовых экспериментах [13]. Этот патологический феномен в равной мере встречается в миокарде обоих желудочка и морфологически представлен пустотами на территории саркомеров. В гиалоплазме в зоне лизиса выявляется детрит, обломки разрушенных лизосом и аутофагосом. Однако основным содержимым пустот являются крупные аутофагосомы, лизосомы которых имеют отчетливые признаки высокой активности в виде везикуляции. Нередко цистерны непосредственно примыкают к очагам лизиса тонофибрилл и сливаются с ними (рис. 6).

Механизм лизиса миофиламентов при действии фтора остается не ясным. Возможно, что это происходит не только по механизму ферментативного лизиса. Известно, что в условиях фтористой интоксикации увеличивается активность щелочной фосфатазы в плазме крови, что обусловлено активацией остеокластов и лизисом костного матрикса. Однако *in situ*, непосредственно, взаимодействуя с тканевыми фосфатазами, фтор-ионы подавляют их активность [5]. Общепринято, что ключевым механизмом в патогенезе фтористых интоксикаций является оксидативный стресс, обусловленный действием гидроксильных радикалов на молекулярные комплексы липо- и гликопротеидов [26, 30]. Накопление ОН-радикалов является специфическим для фтористой интоксикации патогенетическим

фактором, так как фтор приоритетно замещает гидроксильные группы. Высвобождающиеся гидроксильные радикалы либо вступают в реакции окислительного восстановления со свободными катионами водорода, либо, если остаются в структуре макромолекул, координационно связываются с водородом макромолекулярных носителей. В итоге накапливается жидкая вода и гидрофилируются макромолекулы. Это является главным источником воды, расходуемой на объемные внутриклеточные и интерстициальные отеки. Неизбежным последствием накопления гидроксильных групп является ощелачивание тканевой и клеточной жидкости, что, по-видимому, и осложняется химическим растворением миофиламентов, которое в патологоанатомическом понимании представляет собой влажный некроз кардиомиоцитов.

Фтор дезорганизует единую структуру митохондриального ретикула, диспергируя его на автономные органеллы, формирующие местами причудливые ассоциаты. В морфологическом отношении митохондрии характеризуются выраженной неоднородностью форм и размеров. Основной формой митохондрий является классическая в виде вытянутого эллипса. Но присутствуют и более удлинённые сигарообразные формы с хорошо развитым аппаратом крист. В системе отношений аутофаг – митохондрия, которые, по-видимому, близки к отношениям «хищник – жертва», увеличение размеров поддерживает жизнеспособность митохондрий и защищают их от аутофагов, которые атакуют преимущественно ослабленные малые формы с поврежденными кристами [11]. Помимо удлинённых форм присутствуют митохондрии с манифестированными проявлениями экстремального воздействия, а именно каплевидные (сжатые) и набухшие. Отклонение форм в сторону сжатия свидетельствует об уменьшении поверхностного натяжения. Сжатые митохондрии имеют утолщенную наружную мембрану, плотный матрикс

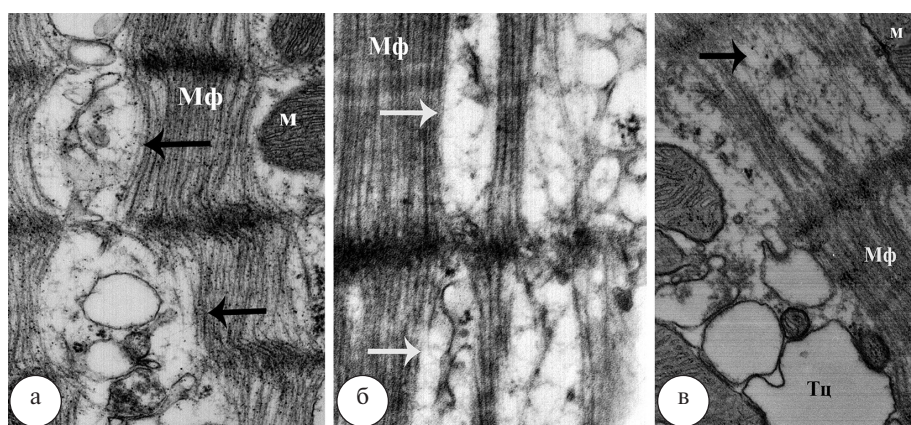


Рис. 6. ТЭМ сердца крысы, подвергнутой действию фтора: а – лизис миофиламентов с формирующейся аутофагосомой; б – лизис и истончение миофиламентов с остаточными частицами; в – лизис миофиламентов вблизи расширенных Т-цистерн; Мф – миофиламенты; Тц – цистерна. Ув. $\times 28000$

и хорошо контурированные кристы, формирующие спиралеобразные структуры. Сжатых митохондрий не много, преобладают набухшие. Очевидно, что набухание митохондрий обусловлено внедрением воды. Причем скорость гидродинамических потоков, по-видимому, достаточно высока, так как митохондрии проявляют признаки гипертрофического, или так называемого высокоамплитудного набухания. Это сопровождается очаговым лизисом и расслоением внутренней мембраны, разглаживанием и фрагментацией крист, просветлением матрикса и осаждением в нем хлопьевидного детрита. В некоторых митохондриях присутствуют довольно крупные гранулы плотного матрикса, окруженные характерной оболочкой. Это могут быть кристаллические депозиты агрегированных наночастиц фосфата или фторида кальция. Но, так или иначе, их появление свидетельствует об избыточной кальцификации митохондриального матрикса. В некоторых митохондриях имеются кристы, в оконечностях которых содержатся мелкие везикулы (рис. 7).

Наряду с деструктивными изменениями усиливаются и территориальные «претензии» митохондрий. При этом увеличивается их подвижность, и они перемещаются на территории таких структурно «запретных» зон, как центральные участки саркомеров, где разрушают актиновые нити, вторгаются в щелевые контакты вставочных дисков, прорываются в полости терминальных цистерн, проникают в перинуклеарное пространство. Фтор индуцирует каспаз-зависимые и одновременно каспаз-не-

зависимые механизмы апоптоза. В ходе реакций апоптотического каскада тонкие взаимоотношения митохондриально/эндоплазматического ретикула дезорганизуется – появляются достаточно широкие соустья, через которые митохондрии могут свободно проникать, в том числе и в перинуклеарное пространство. Столь целенаправленная миграция, по-видимому, регулируется хемотаксисом и является безусловным пусковым механизмом апоптоза. Механизм апоптотического действия фтора сложен и всесторонне изучается. Но терминальные эффекты сводятся к фрагментации дезоксирибонуклеиновой кислоты, увеличению концентрации активных форм кислорода и скачкам мембранного потенциала [23, 29]. Электронно-микроскопически о подготовке к апоптозу кардиомиоцитов, ядра которых «атакованы» митохондриями, достаточно надежно свидетельствуют маргинация гетерохроматина и конденсация его с внутренним листком ядерной мембраны, а также периферическая дислокация ядрышек и грубодисперсная трансформация (сепарирование) их материала (рис. 8).

Закключение. Установлено, что фтор, длительно действующий в малых дозах, дестабилизирует цитоплазматические мембраны, активируют аутофагию и апоптоз кардиомиоцитов. Ведущим патогенетическим фактором фтористой интоксикации является влажный некроз кардиомиоцитов, обусловленный щелочным лизисом миофиламентов в связи со стрессорным избытком гидроксильных групп. Это

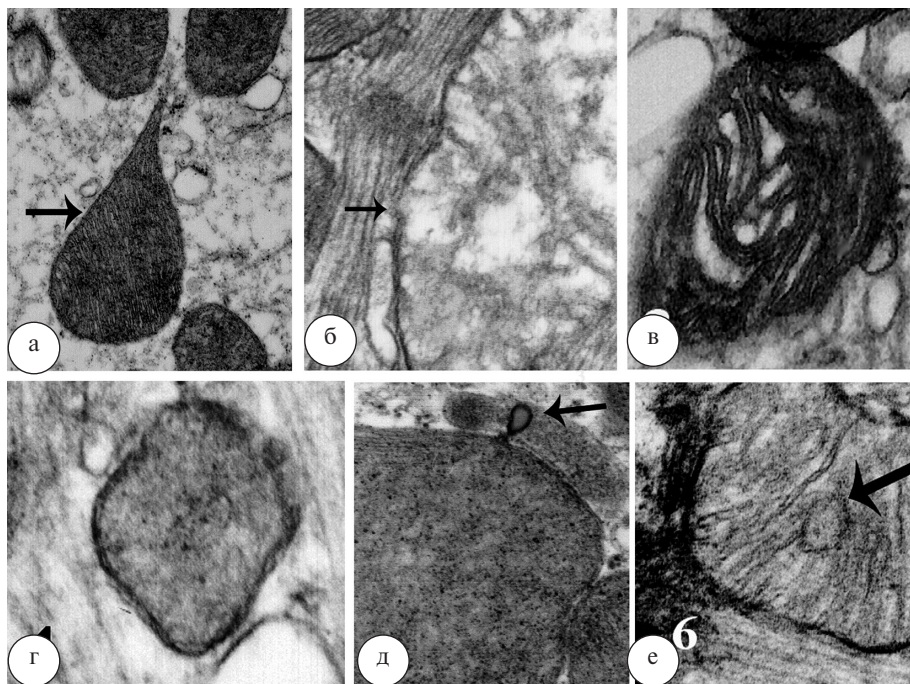


Рис. 7. ТЭМ сердца крысы, подвергнутой действию фтора: а – митохондрия каплевидной формы; б – гипертрофическое набухание митохондрии; в – митохондрии с деформированными кристами; г – митохондрия с утолщенной мембраной; д – кальцификат в митохондрии; е – везикуляция крист. Ув. $\times 28000$

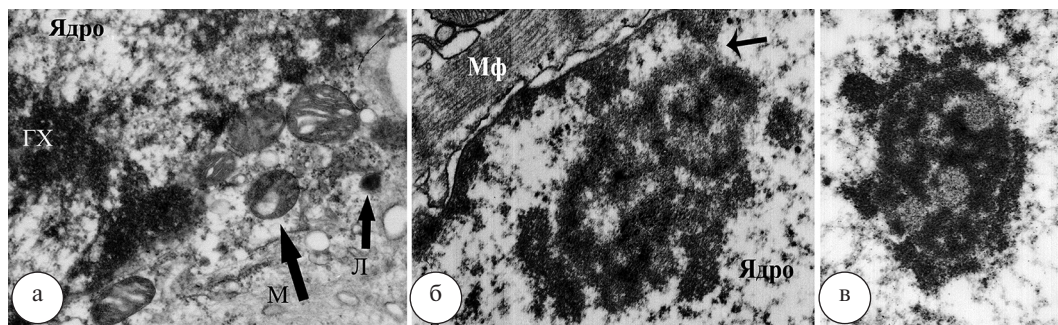


Рис. 8. ТЭМ сердца крысы, подвергнутой действию фтора: а – миграция митохондрий в перинуклеарную область и в ядро кардиомиоцита; б – конденсация ядрышка с ядерной мембраной; в – грубодисперсная трансформация ядрышка; ГХ – гетерохроматин; М – митохондрия; Л – лизосома. Ув. $\times 28000$

составляет основной риск развития токсической кардиомиопатии, который необходимо учитывать при длительной интервенции малых доз фтора, включая и ятрогенные источники, а также предпринимать меры, направленные на снижение фторной нагрузки.

Литература

1. Автандилов, Г.Г. Медицинская морфометрия: руководство / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Федеральный закон № 86 «О лекарственных средствах» (с изменениями и дополнениями) // Собрание законодательства Российской Федерации 03.02.2003, № 2, ст. 167. – С. 50.
3. Aghaei, M. Hypertension and fluoride in drinking water: Case study from West Azerbaijan, Iran / M. Aghaei [et al.] // Fluoride. – 2015. – Vol. 48. – № 3. – P. 252–258.
4. Amini, H. Water Fluoride and Blood Pressure? / H. Amini [et al.] // An Environmental Study Biological trace element research. – 2011. – Vol. 144. – № 1–3. – P. 157–163.
5. Aziz, F. Effect of Fluoride Exposure on Key Enzymes Activity of Protein – Carbohydrate Metabolism in Gills of Fresh Water Fish Tilapia mossambica, Keenjhar Lake, Thatta, Sindh, Pakistan / F. Aziz [et al.] // J. Environment Sci. – 2013. – Vol. 2. – № 8. – P. 24–27.
6. Barbier, O. Molecular mechanisms of fluoride toxicity / O. Barbier [et al.] // Chem. Biol. Int. – 2010. – Vol. 188. – № 2. – P. 319–333.
7. Basha, M.P. Chronic fluoride toxicity and myocardial damage: Antioxidant offered protection in second generation rats / M.P. Basha [et al.] // Toxicol. Int. – 2011. – № 18. – P. 99–104.
8. Briasoulis, A. QT prolongation and torsade de pointes induced by fluoroquinolones: infrequent side effects from commonly used medications / A. Briasoulis [et al.] // Cardiology. – 2011. – Vol. 120. – № 2. – P. 103–110.
9. Chen, W. Targeted PET/CT imaging of vulnerable atherosclerotic plaques: microcalcification with sodium fluoride and inflammation with fluorodeoxyglucose / W. Chen [et al.] // Curr. Cardiol. – 2013. – Vol. 15. – № 6. – P. 364–365.
10. Dutta, D. Upregulated autophagy protects cardiomyocytes from oxidative stress-induced toxicity / D. Dutta [et al.] // Autophagy. – 2013. – Vol. 9. – № 3. – P. 328–344.
11. Gomes, L. Mitochondrial elongation during autophagy / L. Gomes [et al.] // Autophagy. – 2011. – Vol. 7. – № 10. – P. 121–127.
12. Guan, Z. Changed cellular membrane lipid composition and lipid peroxidation of kidney in rats with chronic fluorosis / Z. Guan [et al.] // Arch. Toxicol. – 2000. – Vol. 74. – № 10. – P. 602–608.
13. Ibrahim, A.S. Possible Protective role of Calcium against Fluoride Induced Cardio Toxicities in Adult Male Albino Rats / A.S. Ibrahim [et al.] // Journal of American Science. – 2013. – № 9. – P. 4–8.
14. Karademir, S. Effects of fluorosis on QT dispersion, heart rate variability and echocardiographic parameters in children / S. Karademir [et al.] // Anadolu Kardiyol. Derg. – 2011. – № 11. – P. 150–155.
15. Khairnar, M.R. Mitigation of Fluorosis – A Review / M.R. Khairnar [et al.] // J. Clin. Diagn. Res. – 2015. – Vol. 9. – № 6. – P. 5–9.
16. Klaus, J. Intravenous ibandronate or sodium-fluoride-a 3.5 years study on bone density and fractures in Crohn's disease patients with osteoporosis / J. Klaus [et al.] // J. Gastrointest. Liver Dis. – 2011. – Vol. 20. – № 2. – P. 141–148.
17. Lawson, P.B. Fluoride inhibition of superoxide dismutase (SOD) from the earthworm *Eisenia Fetida* / P.B. Lawson [et al.] // Fluoride. – 2003. – Vol. 36. – № 3. – P. 143–151.
18. Li, Y. Association of vascular fluoride uptake with vascular calcification and coronary artery disease / Y. Li [et al.] // Nuclear Medicine Communications. – 2012. – Vol. 33. – № 1. – P. 14–20.
19. Morabito, N. Three-year effectiveness of intravenous pamidronate versus pamidronate plus slow-release sodium fluoride for postmenopausal osteoporosis / N. Morabito [et al.] // Osteoporos. Int. – 2003. – Vol. 14. – № 6. – P. 500–506.
20. Shanthakumaria, D. Effect of fluoride intoxication on lipidperoxidation and antioxidant status in experimental rats / D. Shanthakumaria [et al.] // Toxicology. – 2004. – Vol. 204. – № 2–3. – P. 219–228.
21. Sun, L. Effect of high fluoride and high fat on serum lipid levels and oxidative stress in rabbits / L. Sun [et al.] // Environ. Toxicol. Pharmacol. – 2014. – Vol. 38. – № 3. – P. 1000–1006.
22. Tao, X. Effects of Fluoride Levels on Lipid Peroxidation and Antioxidant Systems of Growing/Finishing Pigs / X. Tao [et al.] // Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. – 2005. – Vol. 18. – № 4. – P. 552–556.
23. Umarani, V. Rutin potentially attenuates fluoride-induced oxidative stress-mediated cardiotoxicity, blood toxicity and dyslipidemia in rats / V. Umarani [et al.] // Toxicol. Mech. Methods. – 2015. – Vol. 25. – № 2. – P. 143–149.
24. Varol, E. Impact of chronic fluorosis on left ventricular diastolic and global functions / E. Varol [et al.] // Sci. Total. Environ. – 2010. – Vol. 408. – № 11. – P. 2295–2308.
25. Varol, E. Aortic elasticity is impaired in patients with endemic fluorosis / E. Varol [et al.] // Biol. Trace Elem. Res. – 2010. – Vol. 133. – № 2. – P. 121–127.
26. Varol, E. Effect of fluoride toxicity on cardiovascular systems: role of oxidative stress / E. Varol [et al.] // Archives of Toxicology. – 2012. – Vol. 86. – № 10. – P. 1627–1628.
27. Wang, Y. Effect of long term fluoride exposure on lipid composition in rat liver / Y. Wang [et al.] // Toxicology. – 2000. – Vol. 146. – № 2–3. – P. 161–169.
28. Wei, M. Autophagy may protect MC3T3-E1 cells from fluoride-induced apoptosis / M. Wei [et al.] // Autophagy. – 2014. – Vol. 28. – P. 2309–2315.

29. Yan, X. Sodium Fluoride Induces Apoptosis in H9c2 Cardiomyocytes by Altering Mitochondrial Membrane Potential and Intracellular ROS Level / X. Yan [et al.] // Biol. Trace Elem. Res. – 2015. – Vol. 166. – № 2. – P. 210–215.
30. Zhou, B. Fluoride-induced oxidative stress is involved in the morphological damage and dysfunction of liver in female mice / B. Zhou [et al.] // Chemosphere. – 2015. – Vol. 139. – P. 504–511.

A.A. Gaidash, V.Ya. Apchel, E.V. Ivchenko

Cardiomyocytes ultrastructure in course of fluorine action

Abstract. We have studied the prolonged effect of small dose of fluorine on the ultrastructure of cardiomyocytes. The experiment was performed on Vistar rats which received intraperitoneal injections of 0,5 mg/kg solution of sodium fluoride for one month. The electron microscopy findings are: widening of the terminal cisternae, destruction of sarcolemma membranes and formation of pathological anastomoses among cisternae and interstitium, sequestration of detritus in the intercellular space, widening of fissures, lysis of membranes and decrease of the numerical density of intercalated discs nexuses, wet lysis of myofilaments, decrease of the amount of desmosomes and «untwisting» of the blood capillaries interdigitating endotheliocytes contacts, suppression of the ability of endocrine cardiomyocytes for secretory granule formation, impairment of the nuclear apparatus in the form of the nuclear membrane outer layer detachment, lysis of the perinucleolar chromatin, separation with fibrillar forms predominance, lysis and ring-shaped transformation of nucleoli, dislocation of the nucleoli into the peripheral parts of the nuclear space and their fixation to the inner layer of the nuclear membrane, condensation and margination of the heterochromatin, pyknosis of the nuclei, increase of activity of the autophagolysosomes with capture of the lysed filaments particles and organelles and nuclei decay derivatives, as well as migration of autophages into the perinuclear space, intercalated discs fissures, decay of the cytoplasmic membranes and accumulation of myelin particles in the sarcomeres and interstitium, hypertrophic swelling of mitochondria with cristae damage, enhance of the mitochondria migration activity and their translocation to the nuclei of myocardiocytes and intercalated discs fissures. In pathological interpretation the uncovered signs of filaments lysis is a wet necrosis of cardiomyocytes which mechanism of development is determined by the substituting accumulation of hydroxyl radicals, hydrogen redox, and at the end by alkalizing fluorine action. Thus in the course of prolonged intervention with small doses of fluorine including the iatrogenic sources it is necessary to take into account the possible risk of toxic cardiopathy development and take measures aimed at fluorine load decrease.

Key words: autophagolysosomes, cardiomyocytes, cytoplasmic membranes decay, electron microscopy, intercalated discs, mitochondria, myofilaments, nuclei, sodium fluoride, toxic cardiomyopathy, wet necrosis.

Контактный телефон: 8-911-172-39-01; e-mail: jack200@ngs.ru