

УДК: 616.24-018-06:577.118:613.32(043.5)

Г.Ф. Ткач**ВПЛИВ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА ОРГАНОМЕТРИЧНІ ТА ГІСТОМОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ ПОСМУГОВАНОЇ МУСКУЛАТУРИ БІЛИХ ЩУРІВ***Сумський державний університет***Ткач Г.Ф.** Вплив солей важких металів на органоетричні та гістоморфометричні показники посмугової мускулатури білих щурів // Український медичний альманах. – 2014. – Том 17, № 3. – С. 97-100.

У даній роботі проведено вивчення макро- та мікроструктурних перетворень скелетної мускулатури білих щурів різних вікових груп (молодих, зрілих та старечих) в умовах вживання підвищених концентрацій солей міді, цинку та заліза. Максимальні зміни розвиваються на фоні вікових перетворень у тварин старечого віку, що проявляється на органному рівні збільшенням об'єму м'яза, площі його поперечного перетину з одного боку та зменшенням маси м'яза і довжини його черевця з іншого. На мікроскопічному рівні відбувається зростання діаметру м'язових волокон, площі попереченого перетину м'язових волокон, збільшення ширини сполучнотканних прошарків та зменшення кількості ядер міосимпласта на одиницю площі.

Ключові слова: посмуговані м'язи, морфологічні зміни, солі важких металів, щури.**Ткач Г.Ф.** Влияние солей тяжелых металлов на органоетрические и гистоморфометрические показатели исчерченной мускулатуры белых крыс // Український медичний альманах. – 2014. – Том 17, № 3. – С. 97-100.

В данной работе проведено изучение макро- и микроструктурных преобразований скелетной мускулатуры белых крыс разных возрастных групп (молодых, зрелых и старческих) в условиях употребления повышенных концентраций солей меди, цинка и железа. Максимальные изменения развиваются на фоне возрастных преобразований у животных старческого возраста, которые проявляются на органном уровне увеличением объема мышцы, площади её поперечного сечения с одной стороны и уменьшением массы мышцы и длины её брюшка с другой. На микроскопическом уровне происходит рост диаметра мышечных волокон, площади поперечного сечения мышечных волокон, увеличение ширины соединительнотканного прослока и уменьшения количества ядер миосимпласта на единицу площади.

Ключевые слова: исчерченные мышцы, морфологические изменения, соли тяжелых металлов, крысы.**Tkach G.F.** The effect of salts of heavy metals on organometric and histomorphometric indicators of white rats' striated muscles // Український медичний альманах. – 2014. – Том 17, № 3. – С. 97-100.

Heavy metals are especially dangerous in terms of their toxicity and prevalence in Ukraine and other countries. Increasing the content of zinc, iron and copper in the water of some regions of Sumy region reaches toxic levels and exceed the maximum permissible limits tenfold. The action of the salts of these metals is realized by both direct negative impact on the structure and functioning of biological structures and indirectly through effects on the enzyme and antioxidant systems of organisms living beings, which leads to the characteristic morphological changes of tissues and organs.

Purpose. To investigate the nature of the structural changes of skeletal muscles of white rats of different age groups in condition of using high concentrations of salts of copper, zinc and iron found in the water of Yampil district of the Sumy region.**Materials and methods.** This study was performed on 104 white rats. The experimental group received drinking water with the same salt content of heavy metals, corresponding reservoirs of Yampil district of the Sumy region (ZnSO₄ (50 mg/l), CuSO₄ (20 mg/l), FeSO₄ (20 mg/l)) within 90 days. Rats of the control group during the period of the experiment used drinking water. To study were lateral head of triceps calf. Histological preparations were stained with hematoxylin and eosin. The study on samples was carried out by the light microscope Olympus BH-2 (Japan) and by means of a universal computing program "Video Size 5.0" and "5.0 Test Video".**Results.** It was established that the maximum changes is developing against the backdrop of age changes in the elderly animal that shows up at the organ level by the increasing of the volume of muscle, the area of its cross section on one side and a decrease in muscle mass and length on the other. At the microscopic level is increasing the diameter of muscle fibers, the area of cross section of muscle fibers, increasing the width of the layer of connective tissue and decreasing the number of muscle nuclei per unit area.**Conclusion.** Thus, the toxic effects of salts of zinc, copper and iron on striated muscles of rats are characterized by universal signs of cell damage - swelling and degeneration.**Key words:** striated muscles, morphological changes, salts of heavy metals, the rats.

Вступ. Сучасні масштаби забруднення навколишнього середовища набувають загрозливого характеру. Новітній стан виробництва і зростаючий технічний пресинг біосфери сприяють тотальній контамінації ґрунтів, водойм та атмосфери, що чинить негативний ефект на біологічні істоти [6]. Особливо небезпечними для живих організмів є комбінації токсичних речовин, дія яких може бути вкрай непередба-

ченою [2]. Пряме чи непряме надходження в організм забруднювачів різної природи стає причиною розвитку захворювань або фоном для розвитку супутніх порушень функцій організму [5]. Важкі метали є особливо небезпечними з погляду на їх токсичність і розповсюдженість на території України та інших країн світу [3]. Збільшення вмісту цинку, заліза та міді у воді деяких регіонів Сумської області

сягають токсичних рівнів та перевищують гранично допустимі межі у десятки разів [1]. Дія солей зазначених металів реалізується шляхом як прямого негативного впливу на будову та функціонування біологічних структур, так і опосередковано через дію на ферментні та антиоксидантні системи організмів живих істот [4]. Проте, не зважаючи на очевидну актуальність даного питання, аналіз даних літератури за останні роки виявив наявність багатьох невирішених питань структурної перебудови у скелетній мускулатурі під дією солей важких металів, що й спонукало нас до проведення власних досліджень.

Мета дослідження – дослідити характер структурних перетворень скелетної мускулатури білих щурів різних вікових груп в умовах вживання підвищених концентрацій солей міді, цинку та заліза, знайдених у водоймищах Ямпільського району Сумської області.

Матеріали і методи дослідження. Роботу виконано на 104 білих лабораторних щурах. Тварини були розділені на піддослідну та контрольну групи (по 54 щури у кожній). Далі тварин ділили на три підгрупи за віковою ознакою: молоді (4-6 міс.), зрілі (7-9 міс.) та старечі (20-22 міс.) Впродовж 90 днів представники експериментальної групи отримували питну воду із таким вмістом солей важких металів, що відповідає концентрації у водоймах Ямпільського району Сумської області ($ZnSO_4$ (50 мг/л), $CuSO_4$ (20 мг/л), $FeSO_4$ (20 мг/л)). Щури контрольної групи впродовж терміну дослідження отримували звичайну питну воду. Через кожні 30 діб проводився забій шести тварин з кожної підгрупи шляхом декапітації під ефірним наркозом. Для дослідження брали бічну головку литкового м'яза. Гістологічні препарати фарбували гематоксилін - еозинном. Вивчення зразків здійснювалося на світловому мікроскопі Olympus BH-2 (Японія) (біокуляр $\times 10$, $\times 15$, об'єктиви $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$) та за допомогою універсальної обчислювальної програми «Видео Розмер 5.0» та «Видео Тест 5.0» («Селмі», Суми).

Проводили визначення таких параметрів: абсолютна маса м'яза (АММ), абсолютний об'єм м'яза (АОМ), щільність м'язової тканини (ЩМТ), довжина м'язового черевця (ДМВ), діаметр м'яза в середній частині (ДМСЧ), площа поперечного перетину м'яза (ПППМ), діаметр м'язового волокна (ДМВ), ширина ендомізія (ШЕ), ширина перимізії (ШП), площа поперечного перетину м'язового волокна (ПППВ), кількість ядер міосимпласта на одиницю площі (КЯМ).

Для статистичного опрацювання отриманих результатів використовували програму SPSS-15. Достовірність відмінностей визначали за допомогою критерію Ст'юдента (t). При цьому значення $p < 0,05$ вважали статистично достовірними.

Результати дослідження. Органо- та мік-

роморфометричне вивчення скелетної мускулатури щурів молодого віку після першого місяця вживання солей міді, цинку та заліза у підвищених концентраціях виявили недостовірні відхилення у величинах досліджуваних параметрів у тварин експериментальної групи.

Після другого місяця експерименту відзначається зростання АОМ на 5,23% ($p < 0,05$) та зменшення ЩМТ на 5,14% ($p < 0,05$) до $0,391 \pm 0,005 \text{ см}^3$ та $7,93 \pm 0,1 \text{ г/см}^3$ ($p < 0,05$) відповідно. Усі інші органометричні показники бічної головки литкового м'яза щурів лишилися практично незмінними. На гістологічному рівні відбулось збільшення ПППВ у щурів експериментальної групи до $185,16 \pm 0,98 \text{ мкм}^2$ - на 4,36% ($p < 0,05$). Зміни інших гістоморфометричних параметрів не перетнули межі статистичної значимості.

Наприкінці третього місяця мікроелементозу в щурів піддослідної групи на фоні подальшого зростання АММ на 8,92% ($p < 0,05$) та зменшення ЩМТ на 8,7% ($p < 0,05$) до $0,46 \pm 0,005 \text{ см}^3$ та $7,414077 \pm 0,08394 \text{ г/см}^3$ ($p < 0,0001$) відповідно відбулось достовірне зростання ПППМ до $37,48 \pm 0,12 \text{ мм}^2$ - на 5,37% ($p < 0,0001$). Показники АММ, ДМЧ та ДМСЧ лишилися практично сталими. ДМВ у щурів групи експерименту склав $17,11 \pm 0,24 \text{ мкм}$, у контролі даний показник становив $16,44 \pm 0,2 \text{ мкм}$. Достовірність різниці між значеннями показниками впритул наблизилась до рівня статистичної значимості ($p = 0,0576$). На відміну від попередніх термінів експерименту, після третього місяця дослідів було виявлено збільшення ширини перимізії до $33,78 \pm 0,32 \text{ мкм}$ на 4,05% - ($p < 0,05$). ПППВ на даному етапі експерименту становила вже $230,12 \pm 1,01 \text{ мкм}^2$ ($p < 0,0001$). КЯМ та ШЕ лишилися практично незмінними у двох групах.

Після першого місяця експерименту практично усі органометричні показники бічної головки литкового м'яза зрілих щурів лишаються незмінними. Так лише ПППМ збільшилась до $41,20 \pm 0,27 \text{ мм}^2$ на 3,48% - ($p < 0,05$). Гістоморфометричне дослідження виявило достовірне зростання площі поперечного перетину м'язового волокна у щурів дослідної групи до $248,41 \pm 1,17 \text{ мкм}^2$ - на 1,99% ($p < 0,05$). Зміни інших мікроскопічних параметрів як сполучнотканинних прошарків так і безпосередньо м'язових волокон були незначними і не мали статистичної достовірності.

Органометричні показники бічної головки литкового м'яза литки зрілих щурів після другого місяця експерименту знають деяких змін. Так на фоні недостовірних змін АММ, ДМЧ та ДМСЧ відзначається значиме зростання АОМ до $0,561 \pm 0,004 \text{ см}^3$ - на 7,22% ($p < 0,05$) та відповідне зменшення ЩМТ до $6,94 \pm 0,1 \text{ г/см}^3$ - на 6,95% ($p < 0,05$). ПППМ у щурів даного терміну експерименту продовжує зростати і становить після другого місяця експерименту $47,78 \pm 0,31 \text{ мм}^2$ ($p < 0,05$).

Під час вивчення зразків бічної головки

литкового м'яза щурів за допомогою світлового мікроскопу відзначається набряк сполучнотканинних прошарків та м'язових волокон. Візуалізується розширення венул за рахунок порушення венозного відтоку. При вивченні гістоморфометричних параметрів відзначається достовірне зростання ШП до $35,33 \pm 0,32$ мкм - на 3,28% ($p < 0,05$). Також збільшення зазнала і ПППВ, яка склала у щурів даної групи $276,37 \pm 1,22$ мкм² - на 4,73% ($p < 0,05$). ДМВ та ШЕ збільшились на 2,34% та 5,18%, проте достовірність даних змін не перетнула межу статистичної значимості ($p > 0,05$). КЯМ лишилась практично сталою.

Після трьох місяців дослідження у тварин дорослого віку відзначаються ті ж самі зміни, що і у щурів попередніх груп. Так ПППМ зростає до $61,63 \pm 0,27$ мм² (на 10,16%, порівняно з контролем, $p < 0,001$). АММ та ДМЧ зменшились на 0,77% та 1,15% ($p > 0,05$). Недостовірними були і зміни ДМСЧ. При цьому АОМ збільшився до $0,74 \pm 0,005$ см³ - на 12,59% ($p < 0,05$), а ЩМТ зменшилась до $5,51 \pm 0,07$ - на 11,86%; ($p < 0,0001$).

Зміни на мікроскопічному рівні характеризувались посиленням набряку м'язових волокон та інтерстицію, розширенням та повнокрів'ям судин мікроциркуляторного русла, наявністю ознак запалення, значної кількості крапкових крововиливів (рис. 1).

Під час мікроморфометричного аналізу виявилось достовірне зростання ДМВ до $19,95 \pm 0,22$ мкм - на 4,74% ($p < 0,05$). ШП збільшилась до $36,55 \pm 0,33$ мкм - на 4,47% ($p < 0,05$), ПППВ

- до $312,68 \pm 1,34$ мкм² - на 9,71% ($p < 0,05$). Збільшення ШЕ сягнуло 9,34%, проте не було статистично значимим ($p > 0,05$). КЯМ склала $140,18 \pm 1,37$ ($p > 0,05$).

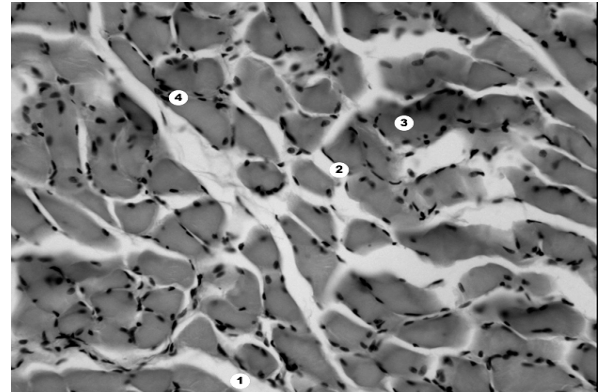


Рисунок 1. Мікроскопічна будова бічної головки литкового м'яза щура зрілого віку після 3-го місяця експерименту. Явища набряку та розширення сполучнотканинних прошарків, набряку і деформації м'язових волокон. Забарвлення гематоксилін-еозином. Х 400. 1 – перимізій; 2 – ендомізій; 3 – м'язове волокно; 4 – ядра міосимпласта.

Вивчення препаратів бічної головки литкового м'яза щурів старечого віку після першого місяця експерименту виявило збільшення показників АОМ та ПППМ на 4,72% і 4,34% відповідно ($p < 0,05$). ЩМТ зменшилась на 4,87%, порівняно з інтактними тваринами ($p < 0,05$). Зміни інших органометричних показників не були достовірними (табл. 1).

Таблиця 1. Органометричні показники м'язової тканини щурів старечого віку, що отримували Ямпільський варіант комбінації солей важких металів, (M±m), n=6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
АММ, г	3,697 ±0,019	3,675 ±0,013	3,674 ±0,017	3,637 ±0,024	3,611 ±0,021	3,539 ±0,017*
АОМ, см ³	0,495214 ±0,00678	0,518587 ±0,0054*	0,472184 ±0,0061	0,525036 ±0,0064*	0,423361 ±0,0059	0,509173 ±0,0058*
ЩМТ, г/см ³	7,451321 ±0,11745	7,087739 ±0,1024*	7,772401 ±0,10748	6,927782 ±0,0994*	8,526999 ±0,14387	6,951673 ±0,12321*
ДМЧ, мм	30,734 ±0,341	30,554 ±0,401	30,084 ±0,357	29,767 ±0,311	29,865 ±0,316	29,385 ±0,402
ДМСЧ, мм	7,323 ±0,173	7,477 ±0,142	7,198 ±0,149	7,437 ±0,122	7,034 ±0,197	7,530 ±0,203
ПППМ, мм ²	42,0835 ±0,1718	43,9125 ±0,1202*	40,6020 ±0,1555	43,4434 ±0,1337*	38,8150 ±0,1218	44,5391 ±0,1303*

Примітка: * - різниця між піддослідною і контрольною групами достовірні при $p < 0,05$

Під час мікроскопічного вивчення зразків литкового м'яза старечих щурів відзначається набряк та розширення як сполучнотканинних прошарків, так і м'язових волокон. Кровоносні судини стромі повнокровні, венули значно розширені. У прошарках перимізії та ендомізії помірна кількість лейкоцитарних інфільтратів. Контури м'язових волокон не чіткі, хвилеподібні, візуалізуються крапкові крововиливи, наявні ознаки запалення. Серед морфометричних показників спостерігається значиме зростання ШП та

ПППВ на 5,97% та 6,86% відповідно ($p < 0,05$). Зміни ДМВ, ШЕ та КЯМ не були достовірними. Значення усіх мікроморфометричних параметрів наведені у таблиці 2.

Зміни органометричних показників препаратів бічної головки литкового м'язу щурів старечого віку після другого місяця експерименту мали такі ж тенденції, що і в попередній термін. Так, в порівнянні з контролем, відбулось збільшення АОМ на 11,19% ($p < 0,0001$), зменшення ЩМТ на 10,87% ($p < 0,0001$) та зростання показ-

ника ПППМ на 6,99 ($p < 0,05$). Значення ДМ та АММ у групі експерименту були меншими на 1,04% та 0,89% відповідно, якщо порівнювати з інтактними щурами, проте дана відмінність не

була статистично значимою ($p > 0,05$). Зростання ДМСЧ на 3,44% також не перетнуло межі достовірності ($p > 0,05$) (табл. 1).

Таблиця 2. Гістоморфометричні показники м'язової тканини щурів старечого віку, що отримували Ямпільський варіант комбінації солей важких металів, ($M \pm m$), $n=6$

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
ДМВ, мкм	17,82±0,22	18,33±0,19	17,55±0,17	18,31±0,11*	17,02±0,21	18,26±0,22*
ШЕ, мкм	4,23±0,13	4,41±0,12	4,37±0,11	4,64±0,12	4,41±0,11	4,85±0,15*
ШП, мкм	37,01±0,26	38,10±0,28*	37,29±0,37	39,16±0,32*	37,55±0,31	40,21±0,19*
ПППВ, мкм ²	249,4051 ±1,0227	264,0293 ±1,0306*	241,9046 ±1,1623	263,3576 ±1,0044*	227,5145 ±1,0443	262,0905 ±1,0148*
КЯМ	140,87±1,28	139,65±1,04	140,18±0,86	136,05±1,41*	136,76±1,12	131,19±1,07*

Примітка: * - різниця між піддослідною і контрольною групами достовірні при $p < 0,05$

Мікроскопічна картина бічної головки лицьового м'яза старечих щурів після двох місяців дослідження характеризується посиленням набрякових процесів. Зростає кількість крововиливів та ділянок запалення. Контури м'язових волокон приймають хвилеподібний контур. Ядра на препаратах мають форму від круглих до видовжено овальних. Серед гістологічних параметрів привертає увагу достовірне збільшення ДМВ у щурів експериментальної групи (на 4,34%; $p < 0,05$). Ще більше зросли показники ШП та ПППВ на 5,03% та 8,86% відповідно ($p < 0,05$). ШЕ збільшилась на 6,21%, проте дані зміни не були достовірними ($p > 0,05$). Натомість відзначається достовірне зменшення КЯМ на 2,94%, порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$) (табл. 2).

Нарешті, після трьох місяців експерименту у тварин старечого віку спостерігається зростання АОМ та ПППМ на 20,27% і 14,74% відповідно ($p < 0,0001$) і зменшення показників АММ та ЦМТ на 1,95% ($p > 0,05$) та 18,47% ($p < 0,0001$) відповідно. Зміни ДМЧ та ДМСЧ так і не перетнули межі статистичної значимості (табл. 1).

Мікроскопічне вивчення препаратів посмугованих м'язів щурів даного віку після трьох місяців експерименту виявило численні ознаки запалення, крововиливів та руйнації м'язових клітин на фоні загально набряку ін-

терстицію та міосимпласта. Зміни усіх мікроморфометричних параметрів у групах порівняння були достовірними. Так показники ДМВ, ШЕ, ШП та ПППВ зросли на 7,33%, 10,19%, 7,11 ($p < 0,05$) і 15,21% ($p < 0,0001$) відповідно. КЯМ зменшилась на 4,07%, порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$) (табл. 2).

Висновки: У результаті токсичної дії солей цинку, міді та заліза на посмуговані м'язи білих щурів солей цинку, міді та заліза відбуваються морфологічні перебудови в усіх групах тварин, характер та ступінь вираженості яких залежить від терміну дії поллютантів та віку тварин.

Максимальні зміни розвиваються на фоні вікових перетворень у тварин старечого віку, що проявляється прискореним розвитком таких процесів, як збільшення об'ємних органометричних показників та зменшення маси м'яза і довжини його черевця на органному рівні, посиленням розвитком набрякових, склеротичних та дегенеративних процесів. Це супроводжується зростанням діаметру м'язових клітин, площі поперечного перетину м'язових волокон, збільшенням ширини сполучнотканинних прошарків та зменшення кількості ядер міосимпласта.

У подальшому планується вивчення впливу солей важких металів на структуру посмугованих м'язів щурів на ультрамікроскопічному рівні та пошуки можливих шляхів запобігання і корекції відповідних змін.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Гінч О. В. Радіаційна обстановка на Сумщині / О. В. Гінч, Ю. В. Кук // Стан природного середовища та проблеми його охорони на Сумщині. – Суми: Джерело, 1997. – С. 44-52.
2. Мудрый И.В. Тяжелые металлы в окружающей среде и их влияние на организм (обзор литературы) / И.В. Мудрый, Т.К. Короленко // Лікарська справа. – 2002. – № 56. – С. 6-12.
3. Неспецифічні патогенетичні механізми поєднаної дії на організм іонізуючого випромінювання та хімічних забруднювачів довкілля / М. М. Коршун, Н. А. Колесова, Н. М. Юрженко [та співавт.] // Вісник Вінницького Національного Медичного Університету. – 2006. - № 10 (2). - С. 342-343.
4. Heavy metal availability and impact on activity of soil microorganisms along a Cu/Zn contamination

- gradient / Y.P. Wang, J.Y. Shi, Q. Lin [et al.] // J Environ Sci (China). – 2007. – V.19. – P. 848-853.
5. Heavy metal toxicity and the environment / P.B. Tchounwou, C.G. Yedjou, A.K. Patlolla [et al.] // EXS. – 2012. – V.101. – P. 133-164.
6. Wójcik A. Assessment of health state in the selected population of rural environment in the aspect of environmental exposure to lead / A. Wójcik, W. Wezgraj, A. Niedzielski // Wiad. Lek. – 2002. - № 55. – P. 977-982.

Надійшла 17.02.2014 р.
Рецензент: проф. В.І.Лузін