

**ГІСТОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТАНУ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ЩУРІВ НА ТЛІ МОДЕЛЮВАННЯ НЕСТАЧІ МЕЛАТОНІНУ В КОМБІНАЦІЇ З РІЗНИМИ ВИДАМИ СТРЕСОВИХ НАВАНТАЖЕНЬ**

<sup>1</sup>Миколаївський базовий медичний коледж (м. Миколаїв)

<sup>2</sup>Миколаївський національний університет імені В.О. Сухомлинського (м. Миколаїв)

[gilmariash@gmail.com](mailto:gilmariash@gmail.com)

Дана робота є фрагментом комплексних наукових досліджень кафедри лабораторної діагностики Миколаївського національного університету імені В. О. Сухомлинського «Вплив біологічно активних речовин епіфізу на морфо-функціональний стан вісцеральних систем організму тварин», державна реєстрація» № 0112U002854.

**Вступ.** В останні роки відзначається підвищений інтерес до всебічного вивчення гормону епіфізу мелатоніну. Виявлено, що даний гормон має широкий спектр біологічної активності [1,6]. Він одночасно є імуностимулятором, нейромедіатором та одним із найпотужніших антиоксидантів [2,3,13,14]. Також доведено, що секреція даного гормону залежить від режиму освітлення [5].

Експериментальні дослідження показали, що мелатонін виконує протекторну роль в екстремальних умовах, які викликані різними видами стресового навантаження [4]. Надмірна фізична активність та іммобілізація є стресовими факторами, що можуть викликати функціональні зміни та різних рівнях організму [8]. Подібні зміни рухової активності, а також порушення фотоперіоду стимулюють процеси перекисного окислення ліпідів, сприяють накопиченню вільних радикалів, що призводить до пошкодження структури клітинних мембран [4]. Ряд авторів у своїх дослідженнях довели, що мелатонін здатний зменшити агресивні впливи вищезгаданих стресових чинників у структурах центральної нервової системи [9,10]. Але подібний ефект даного гормону на інші органи та системи залишається мало вивченим; майже відсутні публікації, що висвітлюють гістологічні зміни в тканинах при порушеннях фотоперіоду в комбінації зі змінами рухових режимів.

В той же час, даних, що висвітлюють стан скелетних м'язів на мікроскопічному рівні за дією вищезгаданих факторів, в спеціальній літературі не знайдено. Тому питання дослідження морфологічних змін скелетних м'язів після впливу іммобілізаційного стресу та надмірних фізичних навантажень в комбінації з порушенням фотоперіоду є актуальним.

**Мета дослідження.** Встановлення особливостей гістологічної будови скелетних м'язів на тлі моделювання умов нестачі мелатоніну в комбінації з іммобілізаційним стресом та надмірними фізичними навантаженнями.

**Об'єкт і методи досліджень.** Об'єктом дослідження виступили 24 шестимісячних самців щурів лінії Wistar, середньою масою 150-200 г. Твари-

ни були розділені на 3 групи, кожна з яких налічувала 8 особин.

Експерименти виконані з дотриманням вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, (Страсбург, 1986) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006).

Розподіл тварин по експериментальним групам відображено в таблиці.

Таблиця.

**Розподіл тварин на експериментальні групи**

№ групи	Характеристика серій	Тривалість досліджу
1.	Відтворення моделі гіпомелатоніемії (Контрольна група № 1) [10]	30 діб
2.	Моделювання гіпомелатоніемії + іммобілізаційний стрес (Дослідна група № 1)	30 діб (іммобілізаційний стрес впродовж останніх 10 діб)
3.	Моделювання гіпомелатоніемії + надмірне фізичне навантаження (Дослідна група № 2)	30 діб (надмірне фізичне навантаження впродовж останніх 10 діб)

У тварин дослідної групи № 1 відтворювали іммобілізаційний стрес шляхом обмеження рухів досліджуваних тварин на 4 години у клітці-пеналі. Використання даних кліток-пеналів різко обмежувало рухову активність тварин, але не утруднювало дихання, а також прийом їжі та води.

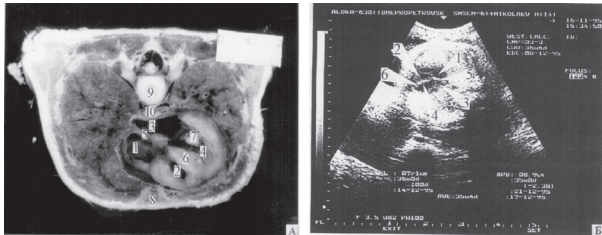
У тварин дослідної групи № 2 відтворювали модель надмірного фізичного навантаження шляхом використання тесту «примусового плавання» (R. Porsolt, 1977) [11].

Матеріалом дослідження виступили фрагменти чотирихоголового м'язу стегна (проміжна голівка), які занурювали у фіксуєчий розчин 10 % нейтрального формаліну. За допомогою загальноприйнятих методик [7] матеріал заключали у парафінові блоки, з яких виготовляли парафінові зрізи товщиною 6-8 мкм з подальшим фарбуванням гематоксиліном та еозином, залізним гематоксиліном, реактивом Цинзерлінга. Отримані гістологічні препарати заключали в канадський бальзам з подальшим вивченням та фотографуванням за допомогою тринокулярного мікроскопа (мікрофот) Karl Zeiss Primo Star

з фотокамерою «Canon G-10», яка під'єднувалась до персонального комп'ютера.

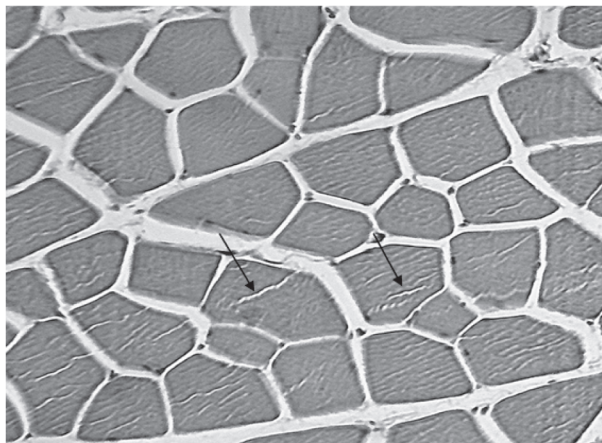
### Результати досліджень та їх обговорення.

При мікроскопії гістологічних препаратів отриманих від контрольної групи № 1 виявлено помірне розрідження міжволоконних та міжпучкових проміжків за рахунок розвитку сполучної тканини. Подібні зміни можуть вказувати на зменшення кількості судин мікроциркуляторного русла, що може спричинити порушення відтоку крові у тканині. Це може привести до появи набряку в досліджуваній тканині (рис. 1).



**Рис. 1. Розрідженість міжволоконних та міжпучкових проміжків. Парафіновий зріз. Гематоксилін-еозин. Мікрофото. Об.×20, ок.×12,5.**

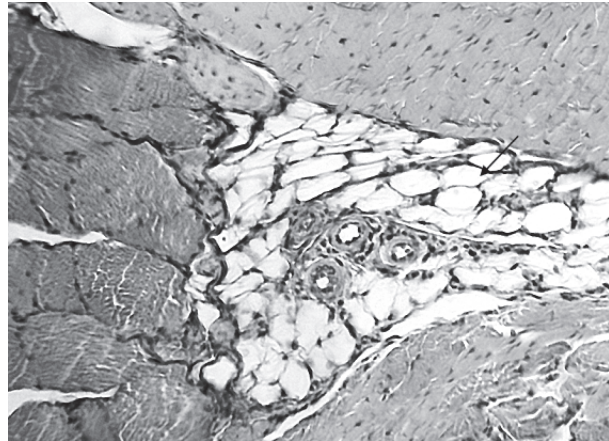
Через порушення мікроциркуляції в тканині виникають зміни у структурі м'язових пучків, що проявляється як пошкодження цілісності комплексу міофібрил (рис. 2).



**Рис. 2. Деструкція м'язових волокон. Парафіновий зріз. Гематоксилін-еозин. Мікрофото. Об.×40, ок.×15.**

Тривалий набряк тканини може призвести до розвитку атрофії у досліджуваних структурах.

Також при дослідженнях гістологічних препаратів даної групи тварин в деяких випадках в товщі тканини відмічається поява адипоцитів (від незрілих форм до оформлених прошарків жирової тканини). Дані зміни також можуть бути ознакою атрофічних змін у структурі м'язової тканини (рис. 3).



**Рис. 3. Скупчення адипоцитів. Парафіновий зріз. Гематоксилін-еозин. Мікрофото. Об.×40, ок.×15.**

При дослідженні гістологічних препаратів тварин дослідної групи № 1 виявлено чітке розщеплення фібрилярного комплексу м'язових пучків. Проміжки між волокнами збільшені та яскраво виражені, виявляється розростання сполучної тканини у міжволоконних та міжпучкових проміжках. М'язове волокно виглядає пошкодженим та набуває вигляд «мозаїки» (рис. 4).

Виявлені гістологічні зміни у тварин даної групи схожі із змінами у тварин контрольній групі № 1.



**Рис. 4. Розростання сполучної тканини. Парафіновий зріз. Залізний гематоксилін. Мікрофото. Об.×20, ок.×10.**

Отже, розглянувши вищеописані зміни, слід зазначити, що до пошкодження структур міофібрил призводить не тільки стан хронічної гіпомелатоніемії, а і стан іммобілізаційного стресу на тлі моделювання нестачі мелатоніну.

При мікроскопії гістологічних препаратів отриманих від дослідної групи № 2 було виявлено, що м'язові волокна не сприйняли фарбувальні речовини. Поява подібних змін, можливо, свідчить про наслідки тканинної гіпоксії, що спричинена станом м'язового перенапруження, в якому перебували піддослідні тварини. Простір між волокнами дещо збільшений і м'язові пучки виглядають оп-

тично однорідними. Також відмічається збільшення міжпучкових проміжків та розростання сполучної тканини (рис. 5).

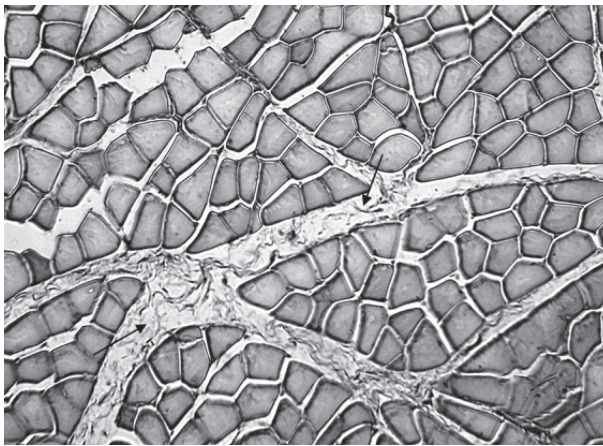


Рис. 5. Збільшення міжпучкових проміжків.  
Парафіновий зріз.  
Реактив Цинзерлінга. Мікрофото. Об.×20, ок.×10.

Слід зазначити, що збільшення проміжків між м'язовими волокнами та розростання сполучної тканини також відмічається у тварин контрольної групи № 1.

**Висновки.** Проаналізувавши гістологічні зміни у структурі досліджуваних тканин, необхідно зазначити, що стан хронічної гіпомелатоніемії в комбінації з різними видами стресових навантажень може призвести до порушення мікроциркуляції, пошкодження цілісності комплексу міофібрил, що в подальшому призведе до атрофічних змін у тканині.

**Перспективи подальших досліджень.** Перспективність розробки даного напрямлення полягає у з'ясуванні особливостей метаболічних процесів, ролі мелатоніну у прооксидантно-антиоксидантних системах захисту скелетних м'язів.

### Література

1. Anisimov V.N. Melatonin: rol' v organizme i primenenie v klinike / V.N. Anisimov. – SPb : Sistema, 2007. – 40 s.
2. Arushanjan Je.B. Vremennaja organizacija dejatel'nosti immunoj sistemy i uchastie v nej jepifiza / Je.B. Arushanjan, Je.V. Bejer // Uspehi fiziol. nauk. – 2006. – 37, № 2. – S. 3-10.
3. Arutjunjan A.V. Polifunktional'noe antioksidantnoe dejstvie melatonina / A.V. Arutjunjan, L.S. Kozina. — Vserossijskaja nauchno-prakticheskaja konferencija 50 let melatoninu: itogi i perspektivy issledovanij. – SPb, 2008. – S. 4-5.
4. Brechko V.V. Vplyv riznyh typiv ruhal'nyh rezhymiv na antyoksydantnyj status v eksperymenci v zalezhnosti vid sezonu ta typu vyshhoi' nervovoi' dijial'nosti / V.V. Brechko, O.L. Jer'omina, O.I. Cebrzhyn's'kyj // Eksper. ta klin. fiziologija i biohimija. – 1999. – T. 2, № 2. – S. 7-10.
5. Vlijanie melatonina i jepitalona na antioksidantnuju sistemu krys zavisit ot svetovogo rezhima / I.A. Vinogradova, V.A. Iljuha, T.N. Il'ina [i dr.] // Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija. – 2006. – № 3. – S. 22-26.
6. Zabelina V.D. Melatonin – «gormon sna» i ne tol'ko / V.D. Zabelina // Consil. Provisorum. – 2006. – № 3. – S. 9-12.
7. Merkulov G.A. Gistologicheskaja tehnika / G.A. Merkulov. – M.: Himizdat, 1961. – 339 s.
8. Myshechnye tkani / O.P. Balezina, G.B. Bol'shakova, N.B. Gusev [i dr.]. – M.: Medicina, 2001. – 240 s.
9. Skochko-Volkova T.A. Porivnjal'na harakterystyka vplyvu melatoninu, piracetamu ta kavintonu na procesy perekysnogo oksylennja lipidiv u riznyh vididlah golovnogogo mozku v umovah intensyvnogo fizychnogo navantazhenja / T.A. Skochko-Volkova, T.O. Zlenko, O.M. Demchenko // Eksper. ta klin. fiziologija i biohimija. – 2001. – № 3. – S. 38-42.
10. Skochko-Volkova T.A. Rol' melatonina v povyshenii adaptivnyh vozmozhnostej organizma k fizicheskim nagruzkam / T.A. Skochko-Volkova, E.T. Zlenko, E.M. Demchenko // Materialy X mezhdunarodnogo simpoziuma «Jekologo-fiziologicheskie problemi adaptacii», 23-31 janvarja 2001. – M. – S. 490-491.
11. Farmakologicheskaja korekcija utomlenija / Ju.G. Bobkov, V.M. Vinogradova, S.S. Losev, V.F. Hatkov. – M.: Medicina, 1984. – 208 s.
12. Chebotar L.D. Efekty hronichnoi' gipomelatoninemii' / L.D. Chebotar, O.I. Cebrzhyn's'kyj // Svit medycyny ta biologii'. – 2006. – № 3. – S. 52-56.
13. Phagocytosis of Candida albicans and superoxide anion levels in ring dove heterophils: Effect of melatonin / M.P. Terron, J. Cubero, C. Barriga [et al.] // J. Neuroendocrinol. – 2003. – Vol. 15, № 12. – P. 1111-1115.
14. Reiter R.J. Melatonin: lowering the high price of free radicals / R.J. Reiter // News Physiol. Sci. – 2000. – Vol. 15. – P. 246-250.

УДК 612.459;612.74;612.741;612.741.15

### ГІСТОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТАНУ СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ ЩУРІВ НА ТЛІ МОДЕЛЮВАННЯ НЕСТАЧІ МЕЛАТОНІНУ В КОМБІНАЦІЇ З РІЗНИМИ ВИДАМИ СТРЕСОВИХ НАВАНТАЖЕНЬ

Гільмутдінова М. Ш., Черно В. С.

**Резюме.** В статті розглядаються гістологічні зміни в будові скелетних м'язів (на прикладі чотирьохголового м'язу стегна) на тлі моделювання умов нестачі мелатоніну в комбінації з різними видами стресових навантажень (імобілізаційний стрес, надмірні фізичні навантаження).

**Ключові слова:** скелетні м'язи, імобілізаційний стрес, надмірні фізичні навантаження, мелатонін.

УДК 612.459;612.74;612.741;612.741.15

### ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТОЯНИЯ СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦ КРЫС НА ФОНЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ НЕДОСТАТКА МЕЛАТОНИНА В КОМБИНАЦИИ С РАЗЛИЧНЫМИ ВИДАМИ СТРЕССОВЫХ НАГРУЗОК

**Гильмутдинова М. Ш., Черно В. С.**

**Резюме.** В статье рассматриваются гистологические изменения в строении скелетных мышц (на примере четырёхглавой мышцы бедра) на фоне моделирования условий недостатка мелатонина в комбинации с различными видами стрессовых нагрузок (иммобилизационный стресс, чрезмерные физические нагрузки).

**Ключевые слова:** скелетные мышцы, иммобилизационный стресс, чрезмерные физические нагрузки, мелатонин.

**UDC** 612.459;612.74;612.741;612.741.15

### **HISTOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE CONDITION OF THE SKELETAL MUSCLES OF RATS ON THE BACKGROUND OF MODELING A LACK OF MELATONIN IN COMBINATION WITH VARIOUS TYPES OF HIGH STRESS**

**Hilmutdinova M., Chernov V.**

**Abstract.** Excessive physical activity and immobilization is a stressful factors that can cause functional changes in different levels of the body. Such changes in motor activity, as well as violations of the photoperiod stimulate the processes of lipid peroxidation, contribute to the accumulation of free radicals that cause damage to the structure of cell membranes. Melatonin is able to reduce the aggressive effects of the above stress factors in the structures of the Central nervous system.

At the same time, the data highlighting the condition of the skeletal muscles at the microscopic level by action of the mentioned factors in the literature was not found. Therefore, the issue of morphological changes of skeletal muscles after exposure to immobilization stress and excessive physical activity in combination with a violation of the photoperiod is important.

Microscopy of histological preparations obtained from control group 1 revealed a moderate vacuum between the fiber and the intervals between the beam due to development of connective tissue. Such changes may indicate a decrease in the number of vessels of the micro circulatory bed, which can cause violation of blood flow in tissue. This can lead to swelling of the tissue studied.

For violations of the micro circulation in the tissue there are changes in the structure of muscle bundles, which manifests as damage to the integrity of a set of myofibrils. Prolonged swelling of the tissue can lead to the development of atrophy in the investigated structures.

Also in studies of histological preparations of this group of animals in some cases in thick tissue, the appearance of adipocytes (from immature forms to decorated layers of fat). These changes can also be a symptom of atrophic changes in the structure of muscle tissue.

In the study of histological preparations animals of the experimental group No. 1 revealed a clear breakdown of fibrillar complex muscle bundles. The spaces between the fibers is increased and pronounced, revealed the growth of connective tissue between the fiber and between the beam intervals. Muscle fiber looks damaged and becomes "mosaic".

Identified histological changes in animals of this group are similar to the changes in the control group No. 1.

So, having considered the above changes, it should be noted that damage to structures of the myofibrils leads not only the state of chronic homeostones, and a state of immobilization stress on the background of modeling a lack of melatonin.

Microscopy of histological preparations received from the experimental group № 2 it has been discovered that muscle fibers do not take dyes. The emergence of such changes may indicate the effects of tissue hypoxia caused by as muscle strain, which were experimental animals. The space between the fibers somewhat increased muscle bundles appear optically homogeneous. There was also an increase between the beam spacing and the proliferation of connective tissue.

It should be noted that the increase in gaps between the muscle fibers and proliferation of connective tissue was also observed in animals of the control group No. 1.

After analyzing the histological changes in the structure of the investigated tissues, it should be noted that the condition of chronic home alone in combination with various types of stress loads can lead to disruption of the microcirculation, damage to the integrity of a set of myofibrils, which will eventually lead to atrophic changes in the tissue.

**Keywords:** skeletal muscle, immobilization stress, excessive physical activity, melatonin.

*Рецензент — проф. Проніна О. М.  
Стаття надійшла 17.08.2017 року*