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

Тимошенко О.О., Масленко Г.О., Ткач Г.Ф.

ЗМІНИ ХІМІЧНОГО СКЛАДУ ТА МІКРОСКОПІЧНОЇ СТРУКТУРИ ПОСМУГОВАНИХ М'ЯЗІВ БІЛИХ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВПЛИВУ НА ОРГАНІЗМ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Сумський державний університет

Одними з найбільш небезпечних екзополютантів з погляду на токсичність та розповсюдженість на території України є важкі метали та їх солі. Проте на сьогодні майже відсутні дані про зміни, що відбуваються у посмугованих м'язах у відповідь на токсичний вплив комбінації солей металів. Саме тому метою нашого дослідження стало вивчити динаміку змін хімічного складу та характер структурних перетворень скелетної мускулатури білих щурів дорослого віку за умов вживання підвищених концентрацій солей свинцю, міді та марганцю. Проведення експерименту здійснювали на 36 білих безпородних щурах. Вивчення концентрації хімічних елементів у посмугованих м'язах виконували за допомогою атомно-абсорбційного спектрофотометра С115-М1, КАС-120.1 (Україна). Дослідження мікропрепаратів проводили з використанням світлового мікроскопа Olympus BH-2 (Японія). У результаті проведеного експерименту виявлено, що потрапляння в організм експериментальних щурів солей міді, свинцю та марганцю зумовлює накопичення іонів відповідних металів у скелетних м'язах. Значне підвищення концентрації міді, свинцю та марганцю призводить до набрякових змін та активації склеротичних і атрофічних процесів у посмугованій мускулатурі щурів зрілого віку, що проявляється на мікроскопічному рівні зростанням діаметру м'язових клітин, площі поперечного перетину м'язових волокон, збільшенням ширини сполучнотканинних прошарків.

Ключові слова: посмуговані м'язи, солі важких металів, гістологічна структура, щури.

Дослідження виконано згідно плану наукових досліджень Сумського державного університету і є складовою частиною науково-дослідної теми кафедри анатомії людини Сумського державного університету "Закономірності вікових і конституціональних морфологічних перетворень за умов впливу ендо- і екзогенних чинників і шляхи їх корекції" (номер державної реєстрації 0113U001347).

Вступ

Одним з небажаних наслідків діяльності людини на Землі є забруднення навколишнього середовища, що являє собою результат прогресу та стрімкого технічного розвитку [1]. Потрапляння в навколишнє середовище або виникнення в ньому нових, звичайно не характерних фізичних, хімічних і біологічних агентів або перевищення їх природного середньорічного рівня невідмінно призводить до негативних впливів на організми живих істот [2]. Вивчення механізму таких впливів на біологічні організми та виявлення змін, що розвиваються в них у відповідь на інтоксикацію дають змогу виявляти можливі механізми захисту та боротьби з пошкоджувальною дією зовнішніх чинників. Одними з найбільш небезпечних екзополютантів з погляду на токсичність та розповсюдженість на території України та інших країн світу безперечно є важкі метали та їх солі [3]. За останні десятиліття були проведені численні роботи по вивченню впливу зазначених токсинів на легені, серце, нирки, головний мозок та інші органи і системи [4,5,6,7]. І лише в останні роки у світовій літературі почали з'являтись публікації, присвячені дослідженню впливу важких металів на скелетні м'язи [8,9,10]. Проте на сьогодні майже відсутні дані про зміни, що відбуваються у посмугованих м'язах у відповідь на токсичний вплив комбінації солей металів, що надходять до організму через шлунково-кишковий тракт. Саме на вирішення цієї проблеми і направлена наша робота.

Мета дослідження

Вивчити динаміку змін хімічного складу та характер структурних перетворень скелетної мускулатури білих щурів дорослого віку за умов вживання підвищених концентрацій солей свинцю, міді та марганцю.

Матеріали та методи дослідження

Проведення експерименту здійснювали на 36 білих безпородних щурах. Тварин розділяли на дослідну та контрольну групи (по 18 щурів відповідно). Протягом 90 діб істотам піддослідної групи давали питну воду з додаванням $MnSO_4 \times 5H_2O$ (5 мг/л), $Pb(NO_3)_2$ (3 мг/л) та $CuSO_4$ (20 мг/л), що відповідає водоймам Середино-Будського району Сумської області. Тварини групи контролю під час всього дослідження вживали звичайну питну воду. Через кожні 30 діб проводили забій шести щурів з кожної групи шляхом декапітації під ефірним наркозом. Для вивчення брали латеральну головку триголового м'яза литки. Визначення концентрації хімічних елементів у посмугованих м'язах здійснювали за допомогою атомно-абсорбційного спектрофотометра С115-М1, КАС-120.1 (Україна) та спеціальної обчислювальної електронної програми до нього «AAS SPEK». Фарбування гістологічних препаратів виконували за Малорі та гематоксиліном і еозином. Вивчення мікропрепаратів проводили з використанням світлового мікроскопа Olympus BH-2 (Японія) (бінокуляр ×10, ×15, об'єктиви ×10, ×20, ×40) та за допомогою універсальної обчислювальної програми «Видео Размер 5.0» та «Видео Тест 5.0» («Селмі», Суми).

Проводили визначення вмісту Cu, Zn, Pb, Fe, Mn, Cr та вивчення таких морфометричних па-

раметрів: діаметр м'язового волокна (ДМВ), ширина ендомізію (ШЕ), ширина перимізію (ШП), площа поперечного перетину м'язового волокна (ППВ), кількість ядер міосимпласту на одиницю площі (КЯМ), діаметр капіляру (ДК), діаметр венули (ДВ) та діаметр артеріоли (ДА). Також проводили обчислення артеріоло-венулярного коефіцієнту (АВК).

Для статистичного опрацювання отриманих результатів використовували програму SPSS-15. Достовірність відмінностей визначали за допомогою непараметричного критерію Манна-Уітні (U). При цьому значення p<0,05 вважали статистично достовірним.

Результати дослідження та їх обговорення

Вживання зрілими щурами води із вмістом солей міді, свинцю та марганцю протягом одного місяця призвело до певних достовірних мікроскопічних змін, зокрема до збільшення ШП на 4,07% (p<0,05), ППВ на 4,48% (p<0,05), ДА на 5,23% (p<0,05), якщо порівнювати з контрольною серією тварин. Зміни інших мікроморфометричних параметрів не перетнули межі статистичної значимості (табл. 1).

Таблиця 1
Результати дослідження м'язової тканини щурів зрілого віку, що отримували солі важких металів, (M±m), n=6

Показник	30-та доба		60-та доба		90-та доба	
	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід
ДМВ, мкм	17,61±0,24	18,01±0,24	18,33±0,26	19,07±0,21	19,05±0,27	20,53±0,19*
ШЕ, мкм	2,77±0,12	2,90±0,14	2,89±0,11	3,18±0,08*	3,01±0,09	3,56±0,11*
ШП, мкм	32,12±0,34	34,13±0,22*	34, 21±0,26	36,56±0,29*	34,99±0,31	38,79±0,21*
ППВ, мкм^2	243,56±1,12	254,49±1,29*	263,81±1,24	285,85±1,41*	285,02±1,07	331,03±1,16*
КЯМ	144,33±1,14	144,33±1,43	151,65±1,53	150,55±1,27	158,18±1,41	157,15±1,34
ДК, мкм	6,11±0,13	5,70±0,22	6,43±0,16	5,77±0,12*	6,87±0,25	5,95±0,11*
ДВ, мкм	21,88±0,23	23,02±0,28*	22,57±0,28	24,48±0,33*	22,87±0,32	25,26±0,27*
ДА, мкм	16,98±0,24	16,64±0,23	17,24±0,22	16,62±0,26	17,47±0,29	16,51±0,17*
АВК	0,776±0,01	0,723±0,011	0,763±0,009	0,678±0,014*	0,763±0,011	0,653±0,012*

*Примітка: * – p ≤ 0,05.*

Аналіз хімічного складу скелетних м'язів щурів зрілого віку після першого місяця дослідження виявив зростання вмісту тих елементів, солі яких в надмірній кількості надходили до організму тварин. Концентрація міді зросла до 1,9170 ± 0,0246 мкг/г (на 9,27%, p<0,05), свинцю – до 0,1897 ± 0,0012 мкг/г (на 10,24%, p<0,05), марганцю – до 0,8246 ± 0,0019 мкг/г (на 5,44%, p<0,05). Вміст цинку становив 24,1288 ± 0,2011 мкг/г, заліза – 33,1027 ± 0,3196 мкг/г, хрому – 0,0153 ± 0,00022 мкг/г. Однак відповідні зміни не мали статистичної значимості (рис. 1).

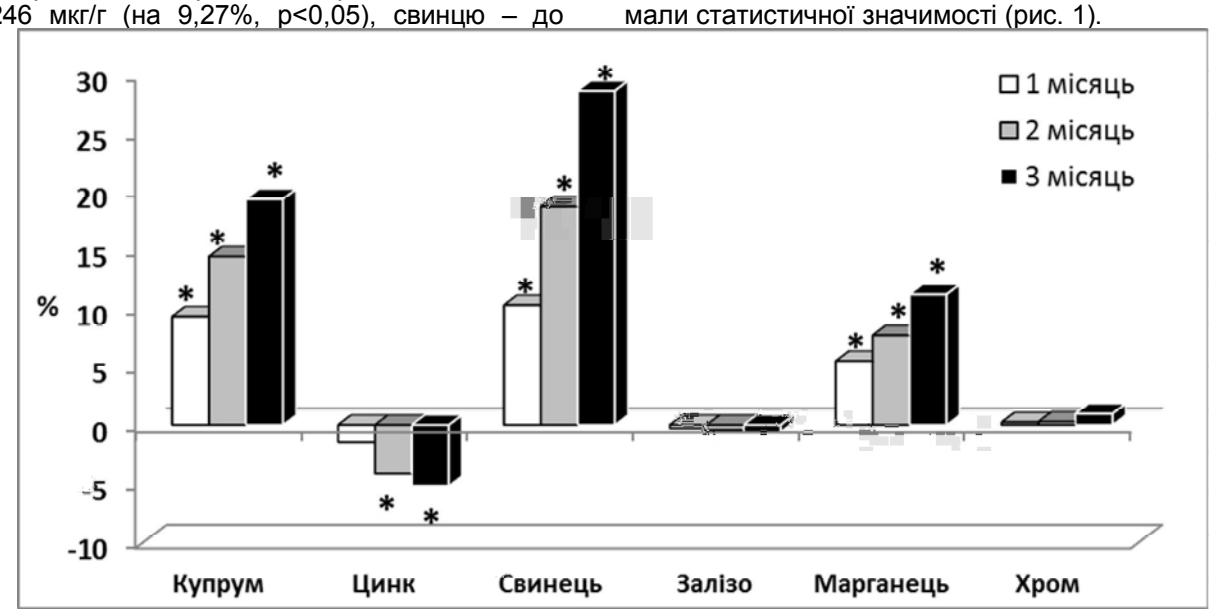

*Рис 1. Відсоткове співвідношення вмісту важких металів у скелетних м'язах щурів зрілого віку за умов вживання солей Pb, Cu та Mn через 1, 2 і 3 місяці досліджень. * – хімічні елементи, концентрація яких у скелетній мускулатурі експериментальних щурів достовірно відрізняється від такої в інтактних тварин.*

Проведене вивчення препаратів латеральної головки триголового м'яза литки щурів зрілого віку після другого місяця експерименту виявило наявність у перимізії та ендомізії поодиноких лімфоїдно-плазмоцитарних інфільтратів. Самі ж сполучнотканинні прошарки були розширеними, містили значну кількість повнокрівних судин. М'язові волокна у пучках розташовувалися компактно, виглядали набряклими, мали незмінний колір. Ядра міосимласту візуалізувались чітко (рис. 2).

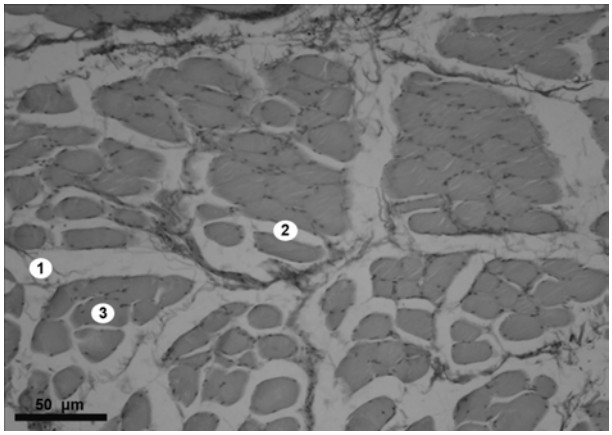

Рис. 2. Гістоструктура латеральної головки триголового м'яза литки щура зрілого віку після 2-го місяця експерименту (поперечний зріз). Явища набряку та розширення сполучнотканинних прошарків і м'язових волокон. Забарвлення гематоксилін-еозином. 1 – перимізій; 2 – ендомізій; 3 – м'язове волокно.

Зміни морфометричних показників після 60-ти діб експерименту були більш вираженими. ШЕ та ШП збільшились на 10,14% і 8,32% відповідно (p<0,05). Діаметр м'язового волокна зріс на 4,08%, проте показник p при статистичному аналізі з використанням критерію Манна-Уітні був більшим за 0,05. ППТВ на даному етапі дослідження була на 8,32% (p<0,05) більше, ніж у відповідному контролі. КЯМ майже не змінилась і становила 150,55 ±1,27 (p>0,05). Морфометрія судинного компоненту литкового м'яза зрілих щурів виявила достовірне зменшення ДК на 10,17% (p<0,05). ДА у дослідних зразках також був меншим, ніж в інтактній групі (на 3,59%), однак це не мало статистичної достовірності. Натомість ДВ значимо зріс на 8,47 (p<0,05). І, як результат, АВК в експериментальних тварин зменшився на 11,12% (p<0,001), якщо порівнювати з контрольними щурами (табл. 1).

Вивчення мікроелементного складу посмугованих м'язів зрілих щурів після двох місяців експерименту виявило поглиблення змін, які спостерігались у тварин після першого місяця досліду. Вміст міді збільшився на 14,42% (до 2,0273 ± 0,0198 мкг/г, (p<0,001), свинцю – на 18,64% (до 0,2041 ± 0,0023 мкг/г, (p<0,001), марганцю – на 7,63 (до 0,8534 ± 0,0023 мкг/г, (p<0,05). Достовірно меншою стала концентрація цинку – 23,6468 ± 0,1994 мкг/г (на 4,16%, (p<0,05) (рис.1). Як і раніше, показники вмісту хрому та заліза лишились практично сталими (0,0154 ± 0,00029 мкг/г і 33,1464 ± 0,2567 мкг/г (p<0,05) відповідно.

Під час вивчення зразків латеральної головки литкового м'яза щурів після третього місяця експерименту відзначалась набряклість та розширення сполучнотканинних прошарків та м'язових волокон, хвилеподібна деформація їхнього контуру (рис. 3). Візуалізувалось розширення венул за рахунок порушення венозного відтоку, місцями відмічались крапкові крововиливи.

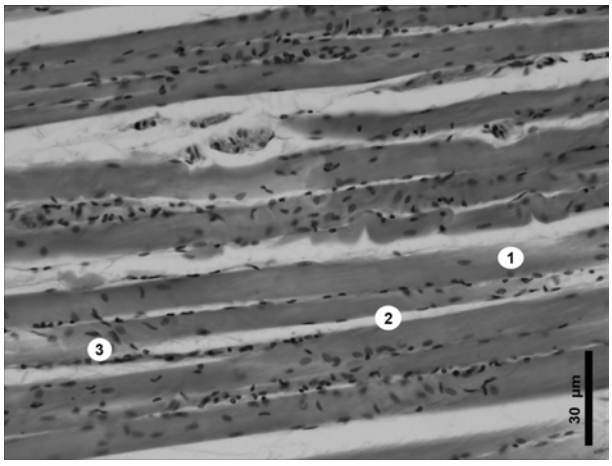

Рис. 3. Гістоструктура латеральної головки триголового м'яза литки щура зрілого віку після 3-го місяця експерименту (поздовжній зріз). Деформація контуру м'язових волокон та розширення сполучнотканинних прошарків. Забарвлення гематоксилін-еозином. 1 – м'язове волокно; 2 – ендомізій; 3 – ядра міосимпласту.

Серед мікроморфометричних показників лише КЯМ лишився практично незмінним у посмугованих м'язах зрілих щурів. ДМВ виявився на 7,77% (p<0,05) більше, ніж у контрольній групі. Показник ШЕ та ШП були на 18,37% та 10,87% (p<0,05) відповідно більше, ніж в інтактних щурів. Значення ППТВ збільшилось на 16,14% (p<0,001). Морфометрія судин литкового м'яза виявила зменшення ДК (на 13,29% (p<0,001) та ДА – на 5,46% (p<0,05). ДВ збільшився на 10,46% (p<0,001). Зміни морфометричних показників дрібних судин призвели до суттєвого зменшення АВК на 14,41% (p<0,001) (табл. 1).

Хімічний аналіз литкового м'яза зрілих щурів після трьох місяців експерименту виявив ті ж самі тенденції змін мікроелементного складу, що і на попередньому етапі дослідження. Проте вони були більш значними. Вміст міді зріс до 2,1075 ± 0,0302 мкг/г, на 19,28% (p<0,001), свинцю – до 0,2213 ± 0,0031 мкг/г, на 28,59% p (<0,001), марганцю – до 0,8823 ± 0,0022 мкг/г, на 11,16% (p<0,001). Концентрація цинку знизилась до 23,1494 ± 0,1307 мкг/г, на 5,21%, (p<0,05). Показники вмісту феруму і хрому склали 33,1407 ± 0,2756 мкг/г та 0,0150 ± 0,00021 мкг/г (p>0,05) відповідно, що суттєво не відрізнялось від подібних значень у групі порівняння (рис. 1).

Висновки

Таким чином, потрапляння в організм експериментальних щурів солей міді, свинцю та марганцю зумовлює накопичення іонів відповідних металів у скелетних м'язах. Поряд з цим спостерігається зменшення вмісту цинку. Вираженість змін вмісту хімічних елементів та структурної перебудови посмугованих м'язів у тварин зрілого віку пропорційне терміну дії полютантів на організм.

Значне підвищення концентрації міді, свинцю та марганцю призводить до набрякових змін та активації склеротичних і атрофічних процесів у

посмугованій мускулатурі щурів. Максимальні зміни розвиваються у кінці терміну експерименту, що проявляється посиленим розвитком набрякових, склеротичних та дегенеративних процесів – зростанням діаметру м'язових клітин, площі попереченого перетину м'язових волокон, збільшенням ширини сполучнотканинних прошарків, повнокрів'ям та розширенням стромальних судин.

У подальшому планується вивчення впливу солей важких металів та їх комбінацій на будову скелетних м'язів щурів різних вікових груп на ультрамікроскопічному рівні та пошуки можливих шляхів корекції відповідних змін з використанням медичних препаратів.

Література

1. Tchounwou P.B. Heavy metal toxicity and the environment / P.B. Tchounwou, C.G. Yedjou, A.K. Patlolla [et al.] // EXS. – 2012. – V. 101. – P. 133-164.
2. Mitchell R.B. International environmental agreements: a survey of their features, formation and effects / R.B. Mitchell // Annual Review of Environment and Resources. – 2003. – V. 28. – P. 429-461.
3. 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.
4. Корбакова А.И. Свинец и его действие на организм (обзор литературы) / А.И. Корбакова, Н.С. Сорокина, Н.Н. Молодкина [и др.] // Медицина труда и промышленная экология. – 2001. – № 5. – С. 29-34.
5. Сікора В.З. Морфологічні перетворення легеневої тканини під впливом екзогенних чинників (літературний огляд) / В.З. Сікора, А.Д. Волкогон // Вісник Сумського державного університету. – 2007. – № 2. – С. 12-21.
6. Meng Z. Cell morphological ultrastructural changes in various organs from mice exposed by inhalation to sulfur dioxide / Z. Meng , Y. Liu // Inhalation Toxicology. – 2007. – Vol. 19, № 6. – P. 543-551.
7. Reykdal O. Cadmium, mercury, iron, copper, manganese and zinc in the liver and kidney of the Icelandic lamb / O. Reykdal, A. Thorlacius // Food Addit. Contam. – 2001. – № 18(11). – P. 960-969.
8. Enli Ya. Cadmium intoxication of pregnant rats and fetuses: interactions of copper supplementation / Ya. Enli, S. Turgut, O. Oztekin [et al.] // Archives of medical research. – 2010. – V. 41. – P. 7-13.
9. Dewanjee S. Toxic effects of lead exposure in Wistar rats: Involvement of oxidative stress and the beneficial role of edible jute (Corchorus olitorius) leaves / S. Dewanjee, R. Sahu, S. Karmakar [et al.] // Food and chemical toxicology. – 2013. – V. 55 – P. 78-91.
10. Wu. J-P. Metallothionein induction and heavy metal accumulation in white shrimp Litopenaeus vannamei exposed to cadmium and zinc / J-P. Wu, H-C. Chen // Comparative Biochemistry and Physiology. – 2005. – V. 140. – P. 383-394.

Реферат

ИЗМЕНЕНИЯ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА И ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПЕРЕЧНО-ПОЛОСАТЫХ МЫШЦ БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ НА ОРГАНИЗМ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Тимошенко А.А., Масленко А.А., Ткач Г.Ф.

Ключевые слова: поперечно-полосатые мышцы, соли тяжелых металлов, гистологическая структура, крысы.

Одними из наиболее опасных экзополлютантов с точки зрения токсичности и распространение на территории Украины являются тяжелые металлы и их соли. Однако на сегодня почти отсутствуют данные об изменениях, происходящих в поперечно-полосатых мышцах в ответ на токсическое воздействие комбинации солей металлов. Именно поэтому целью нашего исследования стало изучить динамику изменений химического состава и характер структурных преобразований скелетной мускулатуры белых крыс взрослого возраста в условиях применения повышенных концентраций солей свинца, меди и марганца. Эксперимент проводили на 36 белых беспородных крысах. Изучение концентрации химических элементов в поперечно-полосатых мышцах выполняли с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра С115-М1, КАС-120.1 (Украина). Исследование микропрепаратов проводили с использованием светового микроскопа Olympus BH-2 (Япония). В результате проведенного эксперимента выявлено, что попадание в организм экспериментальных крыс солей меди, свинца и марганца вызывает накопление ионов соответствующих металлов в скелетных мышцах. Значительное повышение концентрации меди, свинца и марганца приводит к развитию отечных изменений и активации склеротических и атрофических процессов в поперечно-полосатой мускулатуре крыс зрелого возраста, что проявляется на микроскопическом уровне ростом диаметра мышечных клеток, площади поперечного сечения мышечных волокон, увеличением ширины соединительнотканных прослоек.

Summary

CHANGES IN CHEMICAL COMPOSITION AND HISTOLOGICAL STRUCTURE OF STRIATED MUSCLULATURE IN WHITE RATS UNDER OF SALEXPOSURE TO SALTS OF HEAVY METALS

Tymoshenko A.A., Maslenko A.A., Tkach G.F.

Key words: salts, lead, copper and manganese, striated musclulature.

One of the most dangerous exopollutants in terms of toxicity and spreading in Ukraine are heavy metals and their salts. However, to date almost no data about changes occurring in striated muscles in response to the toxic effects produced by the combination of metal salts.Therefore the aim of our study was to investigate the dynamics of changes which occur in the chemical composition and the character of the structural transformations in the skeletal muscles of mature white rats in conditions of higher concentrations of salts of lead, copper and manganese. The experiment involved on 36 white mongrel rats. The study of the concentration of chemical elements in the striated muscles was performed by applying atomic absorption spectrophotometer C115-M1, CAS-120.1 (Ukraine). Microscopy of mounts was performed by a light microscope Olympus BH-2 (Japan). The experiments revealed that intake salts of copper, lead and manganese by rats caused the accumulation of respective metals in skeletal muscle. A significant increase in the concentration of copper, lead and manganese leads to the development of edematous changes and activation of sclerotic and atrophic processes in the striated muscle of matuire rats, which is manifested at the microscopic level by increasing the diameter of the muscle cells, the cross sectional area of muscle fibers, and by increasing the width of the connective tissue sublayers.