

ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН У СЕЧОВОМУ МІХУРІ ЗА УМОВ ЗАСТОСУВАННЯ ВІТАМІНУ Е ДЛЯ КОРЕКЦІЇ ВПЛИВУ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Сікора В.В., Линдін М.С., Гиравенко Н.І., Стельмах В.С., Романюк А.М.

Сумський державний університет, кафедра патологічної анатомії, м. Суми, Україна, ORCID ID: 0000-0002-4147-6879, ORCID ID: 0000-0003-4385-3903, ORCID ID: 0000-0002-9805-014X, ORCID ID: 0000-0001-7693-9223, ORCID ID: 0000-0003-2560-1382, e-mail: v.sikora@med.sumdu.edu.ua

Резюме. Метою дослідження стало вивчення морфологічного стану та хімічного складу тканини сечового міхура (СМ) за умов тривалого одночасного вживання солей важких металів (СВМ) та вітаміну Е. Дослідження моделювали з використанням підібраної комбінації та концентрації найпоширеніших потенційно небезпечних СВМ і вітаміну Е. Матеріалом для дослідження стали СМ шурів, отримані на 30 та 90 доби експерименту. Для вивчення комплексного впливу СВМ та вітаміну Е на СМ використовували гістологічні, імуногістохімічні та спектрофотометричні методи дослідження. Усі статистичні розрахунки виконано у програмних середовищах Graph Pad® 6.0 та Attestat 12.0.5. Результати гістологічного дослідження вказують, що комплексне вживання суміші СВМ та вітаміну Е упродовж тривалого часу супроводжується специфічними патоморфологічними змінами у структурних елементах СМ, а глибина цих трансформацій залежить від терміну дослідження. Зміни колагенових волокон СМ характеризувалися їх хаотичним розташуванням, ремодельованням, набряком, розволокненням, дезорганізацією та надмірним розростанням. При імуногістохімічному дослідженні рецепторів до білка Ki-67 у СМ нами виявлено активацію проліферативних процесів та зростання індексу позитивно забарвлених клітин в епітелії на 30 та 90 доби експериментального дослідження. Надходження важких металів до організму на тлі застосування коригуючої терапії супроводжується зростанням вмісту хімічних елементів у тканині СМ при пролонгації дослідження та досягненням найбільших значень на 90 добу.

Ключові слова: сечовий міхур, солі важких металів, вітамін Е, Ki-67, спектрофотометрія.

Вступ. На сьогоднішній день вирішення питань щодо причин розвитку порушень органів сечової системи ускладнюється зростанням чисельності факторів, що їх зумовлюють. Одним із таких органів є сечовий міхур (СМ), оскільки він піддається впливу різноманітних чинників, що супроводжуються розладами уродинаміки і відображається на складності розуміння глибини його патології та діагностики [1]. Так, актуальним питанням сучасної урології залишається установлення особливостей патогенезу розвитку специфічних порушень запального або онкологічного генезу у даному органі, що характерні для кожного окремого провокуючого фактору [1-3].

Варто зазначити, що серед усіх загрозливих факторів особлива увага приділяється вивченню ролі навколишнього середовища у порушенні фізіологічної мікроекології організму. Це зумовлено зростанням повідомлень щодо наявності сильних кореляційних взаємозв'язків між підвищенням ризиків захворюваності населення з промислово розвиненими локаціями повсякденного життя та високим рівнем урбанізації [4,5]. Так, в Україні і в світі з кожним роком відмічається бурхливе зростання показників онкологічної патології СМ [3,6], а одне з провідних місць за чисельністю злоякісних ново-

утворень органа посідає Сумська область, де екологічна ситуація носить загрозливий характер [7].

У свою чергу, серед варіабельності небезпечних екзогенних чинників, провідна роль у забрудненні довкілля належить солям важких металів (СВМ), у зв'язку з їх токсичністю і здатністю до контамінації у всіх шарах екосистеми. Усестороннє поширення важких металів (ВМ) із варіаціями їх комбінацій та концентрацій супроводжується їх потраплянням до живих організмів, що несе за собою непередбачувані наслідки [3,4,7,8]. При цьому слід зауважити, що дисбаланс рівня практично кожного окремого металу-мікроелемента знаходить негативне відображення при взаємодії з макроорганізмом. Важливо і те, що патологічні зміни в органах, які спровоковані надходженням та акумуляцією ВМ в організмі, залежать від терміну їх впливу [4,8].

З іншого боку, пріоритетним для вивчення є пошук протекторних засобів, які здатні пригнічувати вплив СВМ та інших шкідливих екзогенних чинників із подібною патогенною дією на організм, що сприятимуть зменшення екологічно обумовлених патологій. Одним з таких потужних коректорів є вітамін Е, що зумовлено багатогранністю його властивостей та підтверджено у наукових дослідженнях [9].

Обґрунтування дослідження. У статті розкриваються аспекти гістологічних, імуногістохімічних та спектрофотометричних результатів дослідження СМ за умов коригування комбінованого впливу потенційно небезпечних СВМ (цинк, мідь, залізо, марганець, свинець та хром) за допомогою вітаміну Е. Раніше ми повідомляли про особливості морфологічних змін у стінці СМ за умов вживання суміші ВМ. Ґрунтуючись на цих даних, можна виділити специфічні ознаки, які характерні для тривалої дії екзогенних полютантів [10]. Водночас, ці дослідження слугують порівняльним підґрунтям для вивчення ефективності застосування коректора. Так, встановлено зменшення інтенсивності ушкодження структурних елементів СМ на тлі одночасного тривалого вживання СВМ та вітаміну Е, що поглиблює розуміння взаємозв'язку між глибиною патологічних змін в органі на тлі коригувальної терапії та тривалістю експерименту.

Що ж стосується особливостей реакції СМ, то доведено, що порушення балансу окремих хімічних елементів (хром, миш'як та ін.) супроводжуються розвитком багатьох патологій, серед яких провідне місце займають неоплазії [3,11]. Описана дія одного або двох хімічних елементів не розкриває патогенетичних ланок екологічно обумовлених захворювань у районах з несприятливим поліелементним забрудненням навколишнього середовища. Також застосування коректорів, які б сприяли зменшенню дії одного або декількох металів-мікроелементів та їх наслідків, у цих роботах взагалі не розглядалися. Відомо, що застосування вітаміну Е зменшує акумулятивні властивості ВМ в організмі [12], однак результатів досліджень саме на СМ не знайдено.

Мета дослідження: вивчення морфологічного стану та хімічного складу тканини сечового міхура за

умов тривалого одночасного вживання солей важких металів та вітаміну Е.

Матеріали та методи. Експеримент моделювали з використанням підбраної комбінації та концентрації хімічних елементів, куди ввійшли найпоширеніші потенційно небезпечні СВМ, а саме: цинк ($ZnSO_4 \times 7H_2O$) – 5 мг/л, мідь ($CuSO_4 \times 5H_2O$) – 1 мг/л, залізо ($FeSO_4$) – 10 мг/л, марганець ($MnSO_4 \times 5H_2O$) – 0,1 мг/л, свинець ($Pb(NO_3)_2$) – 0,1 мг/л, хром ($K_2Cr_2O_7$) – 0,1 мг/л. Для коригування дії суміші ВМ було обрано препарат «Альфа-токоферолу ацетат (вітамін Е)» з перерахунком середньої терапевтичної дози для щура (9,1 мг/кг).

Матеріалом для дослідження стали СМ щурів самців. Протягом усього експерименту тварини знаходились в умовах віварію з контролем температури, рівня вологості, світлового режиму день/ніч, а також вільним доступом до води та їжі. Спостереження за тваринами та всі експериментальні дослідження проводилися відповідно до положень, прийнятих «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються у наукових цілях» (Страсбург, 1986 р.), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», схвалених І національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.), «Етичних принципів та вказівок для експериментів на тваринах: 3-є видання» (Швейцарія, 2005 р.) та згідно з законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006 р.).

Згідно з експериментальним сценарієм тварин було рандомно розділено на три групи: І – тварини контролю, які отримували звичайну питну воду; ІІ – щури, які упродовж 30 днів вживали питну воду з сумішшю СВМ та вітамін Е; ІІІ – щури, які споживали питну воду з комбінацією ВМ та коректор протягом 90 днів. Забір СМ проводився на 30 та 90 доби дослідження з попереднього декапітацією тварин на тлі наркозу. Надалі орган проходив етапи фіксації (10% розчин формаліну), дегідратації (у спиртах зростаючої концентрації) та парафінової заливки, з наступним отриманням серійних зрізів на ротатійному мікротомі товщиною 3-5 мкм. Особливості морфологічної будови міхура вивчали шляхом забарвлення отриманих зрізів гематоксилін-еозином. Колагенові волокна ідентифікували за допомогою фарбування за методом Ван-Гізона. Доповненням до гістологічного дослідження стало імуногістохімічне вивчення проліферативної активності клітин перехідного епітелію з використанням моноклональних антитіл до білка Ki-67 (SP6) у розведенні 1:100. Візуалізацію імуногістохімічних рецепторів проведено за допомогою системи детекції «UltraVision Quanto Detection System HRP DAB Cromogen» (Thermo scientific, США). Позитивна ядерна реакція до білка Ki-67 оцінювалась напівкількісним методом, де: 0 балів – негативна реакція, 1 бал – слабкопозитивна реакція (1%<n<10%), 2 бали – помірнопозитивна реакція (11%<n<20%), 3 бали – сильнопозитивна реакція

(n>21%). Мікроскопічне дослідження СМ проводили з використанням мікроскопа «Carl Zeiss Primo Star» з цифровою камерою «Zeiss AxioCam ERs 5s» та програмним забезпеченням «ZEN 2 (blue edition)». Для визначення кількості хімічних елементів у тканині СМ використовували атомно-абсорбційний спектрофотометр С-115М1 з комп'ютерною реєстрацією аналітичного сигналу з розрахунковою програмою «AAS SPEKTR» із урахуванням довжини хвилі кожного елемента (цинк – 213,9 нм, мідь – 324,7 нм, залізо – 248,3 нм, марганець – 279,4 нм, свинець – 283,3 нм, хром – 357,9 нм) [13]. Усі статистичні розрахунки виконано у програмних середовищах Graph Pad® 6.0 та Attestat 12.0.5. Числові показники представлені у вигляді $M \pm SD$, як відсоток приросту у порівнянні з контролем. Оцінка відмінностей між групами проводилася за допомогою непараметричного тесту Манна-Уїтні, де $p < 0,05$ – статично достовірний показник.

Результати дослідження. У попередніх дослідженнях ми показали глибину морфологічних змін у стінці СМ на 30 добу одночасного впливу СВМ та коректора [14]. При цьому нормальна структура СМ порушувалася за рахунок дистрофічних та десквамативних пошкоджень перехідного епітелію, зміни висоти його стояння, помірно виражених проявів порушення гемодинаміки та набряку усіх оболонок органа на тлі дифузної змішано-клітинної запальної інфільтрації (Рис. 1-А).

При вивченні колагенових волокон у СМ тварин ІІ групи встановлено ознаки їх ремоделювання різного ступеня виразності. Колагенові фібрили розташовувалися хаотично та були набряклі, дезорганізовані, різнонаправлені та розволокнені. Волокна, які залишалися без змін, заповнювали міжклітинні простори та обплітали м'язові волокна (Рис. 1-Б).

При імуногістохімічному дослідженні рецепторів до білка Ki-67 у СМ нами виявлено поживлення проліферативних процесів та зростання індексу позитивно-забарвлених клітин в епітелії, що свідчить про збільшення кількості уротеліоцитів у фазі активного мітозу. Так, на 30 добу досліду рівень ядерної експресії Ki-67 в епітеліальних клітинах коливався на рівні $15,33 \pm 3,27\%$ ($p < 0,01$) (Рис. 1-В).

У свою чергу, при гістологічному дослідженні стінки СМ тварин ІІІ експериментальної групи виявлено варіабельні морфологічні зміни, що вражали своєю гетерогенністю (Рис. 2-А). Так, уротелій зберігав свій фізіологічний вигляд лише на невеликих ділянках з ознаками деструктивних змін. Найчастіше десквамативним змінам підлягали саме поверхневі клітини, а глибина ураження коливалася на рівні проміжних, проте місцями вражались і клітини базального шару. Також неоднорідність епітеліального пласта була зумовлена як зменшенням висоти стояння уротеліоцитів (2-3 шари), так і вогнищами гіперплазії (6-7 рядів), за рахунок варіації чисельності клітин проміжного шару.

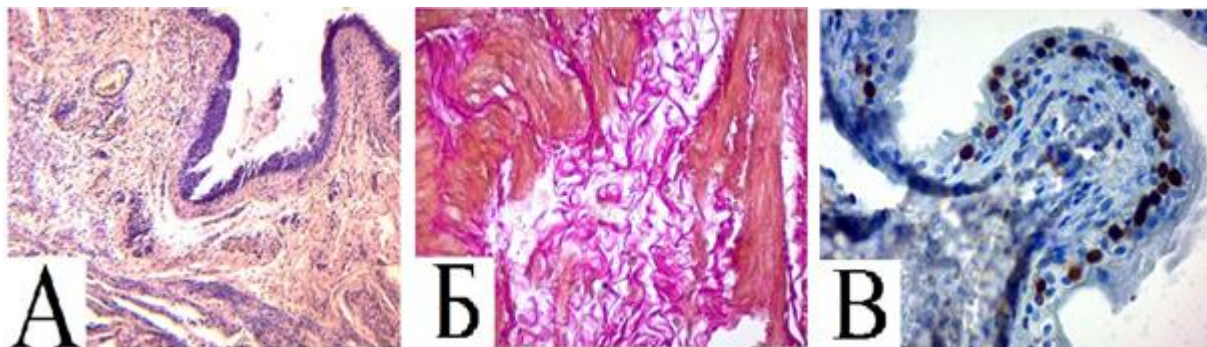


Рис. 1. Стінка СМ піддослідних тварин на 30 добу дослідження. А – забарвлення гематоксилін-еозин ($\times 100$); Б – забарвлення за Ван Гізона ($\times 400$); В – імуногістохімічне дослідження рецепторів до Ki-67 ($\times 400$)

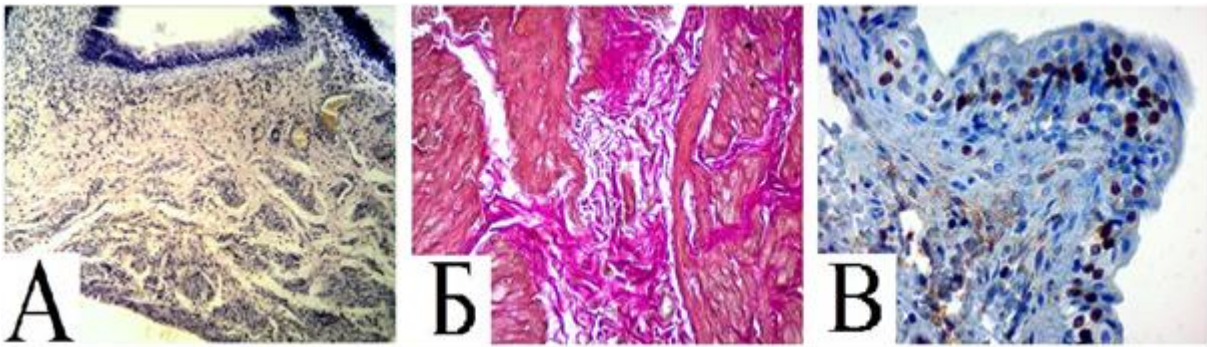


Рис. 2. Стінка СМ підослідних тварин на 90 добу дослідження. А – забарвлення гематоксилін-еозин ($\times 100$); Б – забарвлення за Ван Гізон ($\times 400$); В – імуногістохімічне дослідження рецепторів до Кі-67 ($\times 400$)

У перехідному епітелії візуалізувалися клітини у стадії дистрофії, апоптозу та некрозу. Зміни у власній пластинці, підслизовій, м'язовій та зовнішній оболонках переважно характеризувалися помірним прогресуванням набряку на тлі вогнищевих фіброзних змін, що призвело до згладженості рельєфу СМ зі зменшенням кількості його складок. Переважна кількість гладких м'яцків була дистрофічно змінена, дезорієнтована та розволонена. Стінка артеріальних судин набрякла та потовщена, а їх просвіт звужений та деформований. Вени та венули нерівномірно розширені та повнокровні. Навколо мікросудин та серед структурних елементів СМ спостерігалися помірно виражені запальні інфільтрати. Колагенові волокна були набряклі, розшаровані та дезорієнтовані (Рис. 2–Б). Візуалізувалися вогнища розростання сполучної тканини, що характеризувалося утворенням молодих слабозабарвлених колагенових волокон на тлі потовщених пучків. Варто відмітити, що з пролонгацією дослідження до 3 місяців патоморфологічні зміни продовжували наростати, однак їх інтенсивність була менш виразною, ніж у II групі. У свою чергу, з пролонгацією термінів досліду імуногістохімічно спостерігалося помірне наростання проліферативного потенціалу епітеліоцитів до $17,83 \pm 2,64\%$ ($p < 0,01$) (Рис. 2–В).

Спектральний аналіз тканини СМ щурів II та III групи виявив значне зростання ($p < 0,01$) рівнів цинку на $16,72\%$ ($p < 0,01$) та $24,69\%$ ($p < 0,01$), хрому на $31,81\%$ ($p < 0,01$) та $46,07\%$ ($p < 0,01$), заліза на $44,11\%$ ($p < 0,01$) та $76,58\%$ ($p < 0,01$), марганцю на $23,81\%$ ($p < 0,01$) та $39,82\%$ ($p < 0,01$), міді на $37,38\%$ ($p < 0,01$) та $51,33\%$ ($p < 0,01$), свинцю на $47,72\%$ ($p < 0,01$) та $66,31\%$ ($p < 0,01$) порівняно з вихідними даними контрольної групи у відповідні терміни досліду. У свою чергу, сумарний показник усіх хімічних елементів у стінці органа збільшився ($p < 0,01$) на $39,24\%$ та $66,71\%$, відповідно.

Обговорення результатів. На тлі забруднення навколишнього середовища СВМ відбувається їх тривалий негативний вплив на живі організми, при цьому результати їх різняться залежно від місця проживання та походження цих ксенобіотиків [4,8,10,12,14]. Тривалий контакт, навіть з одним хімічним елементом у надлишкових концентраціях, здатен спровокувати незворотні зміни у макроорганізмі, що значно ускладнює лікувальну тактику та діагностику при екологічно зумовлених патологіях [7,8,13,14]. Відомо, що при надходженні ВМ до організму відбуваються глибокі морфологічні трансформації у структурних елементах СМ, які ідентифіковано за допомогою сучасних гістологічних та імуногістохімічних досліджень [10,11,14]. Однак, важливим питанням залишається визначення ефективних протекторних препаратів, які зменшували дію СВМ на СМ та організм у цілому. Тому наш вибір зупинився на вітаміні Е, так як науковці відмічають його високі відновні, антиоксидантні та металопротекторні можливості [9].

Результати нашого дослідження демонструють, що комплексний вплив СВМ та вітаміну Е супроводжується морфологічними змінами в усіх оболонках органа. Однак, при порівнянні отриманих результатів з попередніми дослідженнями [10] перед нами розкриваються суттєві відмінності пошкодження СМ у щурів з використанням коригуючої терапії та без неї. Згідно з аналізом наших результатів та даних літератури відомо, що, потрапивши в організм, метали-мікроелементи здатні циркулювати в організмі та впливати на СМ гематогенним та/або контактним шляхами [4,8,10,12-16] (Рис. 3).



Рис. 3. Схема впливу СВМ на СМ

Так, доведено, що зі зростанням вмісту ВМ у сечі, прямий контакт з уротелієм супроводжується порушенням висоти його стояння [14,16]. Результати цих досліджень обґрунтовують глибину пошкодження епітелію органа, а зростання проліферативного потенціалу свідчить про активацію регенераторних процесів у слизовій оболонці.

Аналіз хімічного складу вказав на значне зростання вмісту ВМ в тканині СМ. При цьому рівні їх накопичення поступово зростають з пролонгацією дослідження до 90 днів, хоча інтенсивність акумулювання у цей термін дещо знизалась, порівнюючи з показниками 30 доби експерименту. Найбільш високими відсотковими значеннями володіли свинець та залізо, а найменшими – цинк, порівняно із загальною тенденцією інших ВМ. На нашу думку, такий характер змін елементного складу обумовлений їх антагоністичними відносинами та зривом компенсаторних функцій організму за рахунок постійної двобічної дії полютантів, а зменшення виразності накопичення у 3 місячний період, можливо, свідчить про активацію адаптивних механізмів.

Виходячи з вищезазначеного, можна стверджувати, що вітамін Е не гарантує повної протекції від дії ВМ на організм, проте його застосування значно зменшує об'єм негативних наслідків. Підібрані нами дослі-

дження частково описують критерії діагностики і специфіку варіабельності змін у СМ, що характерні саме для дії СВМ на тлі одночасного вживання коректора. Це може слугувати теоретичним підґрунтям для розуміння профілактичного лікування патологій, спричинених екзогенними поллютантами.

Висновки. Комплексне вживання суміші солей важких металів та вітаміну Е упродовж тривалого часу супроводжується специфічними патоморфологічними змінами у структурних елементах сечового міхура, а глибина цих перебудов залежить від терміну дослідження. Активність проліферативного потенціалу перехідного епітелію органа значно зростає та залишається на достатньо високому рівні упродовж усього терміну дослідження. Застосування коригуючої терапії на тлі надходження важких металів до організму не забезпечує повної протекції від їх акумуляції у тканині сечового міхура.

References:

- Rasouly H. Lower urinary tract development and disease / H. Rasouly, W. Lu. // Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med. – 2013. – №5. – С. 307–42.
- Hickling D. R. Anatomy and Physiology of the Urinary Tract: Relation to Host Defense and Microbial Infection [Електронний ресурс] / D. R. Hickling, T. T. Sun, X. R. Wu // Microbiol Spectr. – 2015. – Режим доступу до ресурсу: <http://asmscience.org/content/journal/microbiolspec/10.1128/microbiolspec.UTI-0016-2012>. DOI: 10.1128/microbiolspec.UTI-0016-2012.
- Hexavalent chromium induces chromosome instability in human urothelial cells. / [S. Wise, A. Holmes, L. Liou та ін.]. // Toxicol Appl Pharmacol. – 2016. – №296. – С. 54–60.
- Heavy Metal Contamination in Vegetables, Soil and Water and Potential Health Risk Assessment / A. Hamid, H. Riaz, S. Akhtar, S. Ahmad. // Am-Euras. J. Agric. & Environ. Sci. – 2016. – №16. – С. 786–94.
- Pollack L. Urban health and ecology: the promise of an avian biomonitoring tool. / L. Pollack, M. R. Ondrasek, R. Calisi. // Curr Zool. – 2017. – №63. – С. 205–12.
- Bladder Cancer Incidence and Mortality: A Global Overview and Recent Trends / [S. Antoni, J. Ferlay, I. Soerjomataram та ін.]. // Eur Urol. – 2017. – №71. – С. 96–108.
- Ekolohichni chynnyky vynyknennia patolohii sechovoho mikhura / [A. M. Romaniuk, V. V. Sikora, M. S. Lyndin та ін.]. // Aktualni problemy suchasnoi medytsyny. – 2016. – №16. – С. 156–60.
- Poshyrenist vazhkykh metaliv u navkolyshnomu seredovyshchi ta yikh rol u zhyttiediiialnosti orhanizmu / A. M. Romaniuk, V. V. Sikora, Yu. M. Lyndina, M. S. Lyndin. // Bukovynskyi medychnyi visnyk. – 2017. – №21. – С. 145–50.
- Jiang Q. Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant and anti-inflammatory activities and the role in disease prevention and therapy / Jiang. // Free Radic Biol Med. – 2014. – №72. – С. 76–90.
- The features of morphological changes in the urinary bladder under combined effect of heavy metal salts / [A. Romaniuk, V. Sikora, M. Lyndin та ін.]. // Interv Med Appl Sci. – 2017. – №9. – С. 105–11.
- Saint-Jacques N, Parker L, Brown P, Dummer TJB. Arsenic in drinking water and urinary tract cancers: a systematic review of 30 years of epidemiological evidence. Environ Health. 2014;13:44. DOI: 10.1186/1476-069X-13-44.
- Melnykova N. M. Vplyv antyoksydantiv na mineralnyi sklad krovi molodykh ta starykh shchuriv za umov otruiennia kadmiiu sulfatom / N. M. Melnykova, N. M. Voroshylova. // Suchasni problemy toksykolohii. – 2005. – №1. – С. 57–9.
- Makro- ta mikroelementy (obmin, patolohii ta metody vyznachennia): monohrafiia / M. V. Pohorielov, V. I. Bumeister, H. F. Tkach, S. D. Bonchev, V. Z. Sikora, L. F. Sukhodub, S. M. Danylchenko, – Sumy: Vyd-vo SumDU, 2010. – 147 s.
- Histolohichni zminy sechovoho mikhura shchuriv za umov modelovanoho pidhostroho vplyvu solei vazhkykh metaliv / [A. M. Romaniuk, V. V. Sikora, M. S. Lyndin та ін.]. // Visnyk problem biolohii i medytsyny. – 2016. – №2. – С. 80–3.
- Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals / [M. Jaishankar, T. Tseten, N. Anbalagan та ін.]. // Interdiscip Toxicol. – 2014. – №7. – С. 60–72.
- Sikora V. V. Otsinka morfometrychnoho stanu slyzovoi obolonky sechovoho mikhura ta rivnia ekskretsii mikroelementiv z secheiu za umov vzhyvannia sumishi vazhkykh metaliv / V. V. Sikora. // Visnyk morfologii. – 2017. – №23. – С. 256–9.

УДК 616.62-005-092.9:616.63:615.356:577.161.3

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ В МОЧЕВОМ ПУЗЫРЕ В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ ВИТАМИНА Е ДЛЯ КОРРЕКЦИИ ВЛИЯНИЯ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Сикора В.В., Лындин Н.С., Гирявенко Н.И., Стельмах В.С., Романюк А.Р.

Сумской государственной университет, кафедра патологической анатомии, г. Сумы, Украина, ORCID ID: 0000-0002-4147-6879, ORCID ID: 0000-0003-4385-3903, ORCID ID: 0000-0002-9805-014X, ORCID ID: 0000-0001-7693-9223, ORCID ID: 0000-0003-2560-1382, e-mail: v.sikora@med.sumdu.edu.ua

Резюме. Целью данного исследования стало изучение морфологического состояния и химического состава ткани мочевого пузыря (МП) в условиях длительного одновременного употребления солей тяжелых металлов (СТМ) и витамина Е. Исследование моделировали с использованием подобранной комбинации и концентрации из самых распространенных потенциально опасных СТМ и витамина Е. Материалом для исследования стали СМ крыс, полученные на 30 и 90 сутки эксперимента. Для изучения комплексного влияния СВМ и витамина Е на МП использовали гистологические, иммуногистохимические и спектрофотометрические методы исследования. Все статистические расчеты выполнены в программных средах Graph Pad® 6.0 и Attestat 12.0.5. Результаты гистологического исследования указывают, что комплексное употребление смеси СТМ и витамина Е в течение длительного времени сопровождается специфическими патоморфологическими изменениями в структурных элементах МП, а глубина этих трансформаций зависит от срока исследования. Изменения коллагеновых волокон МП характеризовались их хаотичным расположением, ремоделированием, отеком, разволокнением, дезорганизацией и чрезмерным разрастанием. При иммуногистохимическом исследовании рецепторов к белку Ki-67 в МП нами выявлено активацию пролиферативных процессов и увеличение индекса положительно окрашенных клеток в эпителии на 30 и 90 сутки экспериментального исследования. Поступления тяжелых металлов в организм на фоне применения корректирующей терапии сопровождалось увеличением концентрации

онного содержания химических элементов в ткани МП при пролонгации исследования и достижением наибольших значений на 90 сутки.

Ключевые слова: мочевой пузырь, соли тяжелых металлов, витамин Е, Ki-67, спектрофотометрия.

UDC 616.62-005-092.9:616.63:615.356:577.161.3

THE CHARACTERISTIC OF CHANGES IN THE URINARY BLADDER UNDER THE CONDITIONS OF VITAMIN E APPLICATION FOR THE CORRECTION OF HEAVY METAL SALTS INFLUENCE

V.V. Sikora, M.S. Lyndin, N.I. Hyriavenko,
V.S. Stelmakh, A.M. Romaniuk

Sumy State University, department of pathological anatomy, Sumy, Ukraine, ORCID ID: 0000-0002-4147-6879, ORCID ID: 0000-0003-4385-3903, ORCID ID: 0000-0002-9805-014X, ORCID ID: 0000-0001-7693-9223, ORCID ID: 0000-0003-2560-1382, e-mail: v.sikora@med.sumdu.edu.ua

Abstract. Introduction. Disfunctioning of the bladder is an essential issue of modern urology. This organ is exposed to various exogenous factors, which impairs the understanding of all aspects of the background of its pathology. Among the variety of factors of environmental pollution, heavy metals salts occupy the leading place (HMS). Getting into the organism these chemical elements can lead to unpredictable consequences of urinary bladder (UB) affecting the violation of its functioning. It is also important that these pathological changes depend on the duration of their pollutants. Therefore, the priority of this study is the search for protector solutions that can suppress the effect of HMS on the UB.

The purpose of the research was to study the morphological state and chemical composition of the urinary bladder tissue under conditions of long-term concomitant use of heavy metals salts and vitamin E.

Materials and methods. This experiment was modelled using a selection of combinations and concentrations of chemical elements that included the most commonly encountered potentially dangerous HMS (zinc, manganese, iron, lead, copper and chromium). "Alpha-tocopherol acetate" (vitamin E) medication was chosen to correct the action of a mixture of HMS. The experiment was performed on

male rats, which according to the experimental case had been given a mixture of HMS and vitamin E for 30 and 90 days. The material for the research became the UBs of experimental rodents. In a microscopic examination of the organ the coloration of hematoxylin-eosin and the Van Gyzon method were used, as well as a marker of immunohistochemical identification of Ki-67. The number of chemical elements in the UB tissue was studied using atomic absorption spectrophotometry. All statistical calculations are performed in Graph Pad® 6.0 and Attestat 12.0.5 software environments.

Results. The results of the histological research indicate that even the use of vitamin E against the background of long-term exposure to HMS develop a pathological effect of the UB of varying degrees of severity. At the same time, pathomorphological changes occurred in all membranes and increased the development of the experiment, but their intensity decreased. Studying collagen fibers in rodents' bladders on the 30th and 90th day of the research, signs of their remodeling were characterized and were designated by chaotic arrangement, swelling, folding, disorganization and their growth. Making immunohistochemical research of receptors for Ki-67 protein in the bladder, we found an increase in proliferative processes and growth of the positive-stained cell index in the epithelium at 30 and 90 days of the experimental research. Significantly increased the indexes of the content of chemical elements in the UB tissue compared to the control group. At the same time, the concentrations of heavy metals increased as the research progressed and reached the highest level by 90 days.

Conclusions. Complex use of a mixture of heavy metal salts and vitamin E over a long period of time is accompanied by specific pathomorphological changes in the structural elements of the urinary bladder, and the intensity of these reorganizations depends on the duration of the research. In this case, the activity of the proliferative potential of the transient epithelium of the organ significantly increases and remained at a sufficiently high level throughout the research period. The use of corrective therapy against the background of the receipt of heavy metals in the body does not provide the full protection from their accumulation in the urinary bladder tissue.

Keywords: urinary bladder, heavy metals salts, vitamin E, Ki-67.

Стаття надійшла до редакції 11.06.2018 р.