

**А.М.Романюк
С.В.Сауляк
Р.А.Москаленко
Ю.В.Москаленко
Г.Ю.Будко**

Медичний інститут
Сумського державного
університету

Ключові слова: сім'яники, щури, солі важких металів, мікроелементи, тропізм.

*Надійшла: 28.04.2011
Прийнята: 11.06.2011*

УДК 616.68-092:577.118:612.014.46

ЗМІНИ МІКРОЕЛЕМЕНТНОГО СТАТУСУ СІМ'ЯНИКІВ ЩУРІВ В УМОВАХ ПІДВИЩЕНОГО НАДХОДЖЕННЯ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної роботи "Морфофункціональні особливості перебудови скелета та внутрішніх органів в умовах порушеного гомеостазу" (№ державної реєстрації 0107U001287).

Резюме. У роботі представлені результати дослідження тканини сім'яних залоз 128 щурів, які протягом 48 днів отримували з питною водою солі цинку, міді, заліза, марганцю, хрому та свинцю. Метою дослідження було вивчення накопичення цинку, міді, свинцю, марганцю, хрому та заліза в тканині сім'яників при їх аліментарному надходженні та в умовах корекції препаратом «Тівортін». За допомогою методу спектрофотометрії в атомно-абсорбційному режимі встановлено, що рівень цинку знижується, а інших досліджуваних мікроелементів зростає. Накопичення міді, заліза, марганцю, хрому та свинцю у тканині сім'яних залоз найбільш виражене у терміні 48 діб, найбільшу тропність до органу проявляють мідь, свинець та хром.

Морфологія. – 2011. – Т. V, № 2. – С. 55-60.

© А.М.Романюк, С.В.Сауляк, Р.А.Москаленко, Ю.В.Москаленко, Г.Ю.Будко, 2011.

Romanuk A.M., Saulyak S.V., Moskalenko R.A., Moskalenko Yu.V., Budko A.Yu. Microelement status changes of rats testis under increased receipts of heavy metals salts.

Summary. The results of the study of 128 rats tissue seminal glands. We presented the experimental rats within 48 days received drinking water salts of zinc, copper, iron, manganese, chromium, and lead. The objective was to study the accumulation of zinc, copper, lead, manganese, chromium and iron in the testicular tissue in their alimentary receipt and in a correction by the drug "Tivortin." The spectrophotometry in atomic absorption mode revealed reduced levels of zinc and increased level of other studied trace elements. Accumulation of copper, iron, manganese, chromium and lead in seminal gland tissue is defined within 48 days, copper, lead and chromium exhibit the largest organ tropism.

Key words: testis, rats, heavy metals salts, trace elements, organ tropism.

Вступ

Серед хімічних речовин, що забруднюють навколишнє середовище, важкі метали та їх сполуки утворюють значну групу токсикантів, які відносяться до пріоритетних забруднювачів виробничого та оточуючого середовища, тому першочергове значення досліджень в цьому напрямку неодноразово відмічалось у наукових роботах (Пикалюк В.С., 2004; Гончарук Є.Г., 2006).

Сьогодні проведені дослідження впливу модельованих мікроелементозів на кісткову систему, серце, легені, підшлункову та щитоподібну залози (Сікора В.З., Погорелова О.С., 2008; Сікора В.З., Романюк К.А., 2009; Кореньков О.В., 2009; Кравець О.В., 2009; Сікора В.З., Волкогон А.Д., 2010; Москаленко Р.А., 2010). У той же час залишається мало дослідженим вплив комбінації солей важких металів (СВМ) на сім'яні залози і не повністю зрозуміла суть патогенетичних механізмів чоловічого безпліддя. Тому вивчення механізму впливу мікроелементозу на сім'яники та гамети важливе в аспекті морфологічних змін

та вибору патогенетично обґрунтованого способу корекції.

Взаємовідносини між прооксидантними та антиоксидантними факторами є складовою частиною морфофункціонального гомеостазу. Саме через порушення прооксидантно-антиоксидантної системи реалізується значна частина несприятливих екзо- та ендогенних впливів з виникненням морфологічних наслідків (Цержбинський О.И., 2008). Доведено, що під впливом навколишнього середовища за останні роки з'явився несприятливий тренд у чоловічій репродуктивній здатності (Артюхин А.А., 1999).

Мета

Дослідити інтенсивність накопичення цинку, міді, свинцю, марганцю, хрому та заліза в тканині сім'яників піддослідних тварин при їх аліментарному надходженні та в умовах корекції препаратом «Тівортін».

Матеріал і методи

Дослідження проведено на 128 лабораторних білих щурах-самцях статевозрілої вікової серії (5 місяців від народження, з вихідною ма-

сою 180-200 г). Шури, як об'єкт морфологічного дослідження, були вибрані у зв'язку з подібністю будови і функціонального статусу їх сім'яників до чоловічих статевих залоз.

Під час експерименту лабораторних тварин утримували відповідно до правил, прийнятих Європейською конвенцією із захисту хребетних тварин, яких використовували для експерименту і наукових завдань (Страсбург, 1986), «Загальних етичних правил експериментів над тваринами», затверджених I Національним конгресом з біотики (Київ, 2001) та закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3477-IV від 21.02.2006 р.

Для виведення морфофункціональної системи сім'яників з стану рівноваги експериментальні тварини отримували комбінацію СВМ, яка моделювала стан мікроелементозу, характерного для північних районів Сумської області (підвищена кількість цинку, міді, заліза, марганцю, свинцю, хрому) (Кореньков О.В., 2009, Москаленко Р.А., 2010).

Піддослідні тварини поділені на групи в залежності від отримуваного набору ксенобіотиків. Першу групу становили контрольні шури, яким внутрішньоочеревинно вводили 2 мл фізіологічного розчину. Тварини другої групи отримували дистильовану воду з комбінацією СВМ: цинку ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) – 5 мг/л, міді ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) – 1 мг/л, заліза ($FeSO_4$) – 10 мг/л, марганцю ($MnSO_4 \cdot 5H_2O$) – 0,1 мг/л, свинцю ($Pb(NO_3)_2$) – 0,1 мг/л, хрому ($K_2Cr_2O_7$) – 0,1 мг/л. У третій групі шури на фоні впливу вищевказаної комбінації металів, отримували тівортін у дозі 336 мг/кг внутрішньоочеревинно. Тривалість експерименту (48 діб) дорівнювала 1 циклу сперматогенезу і часу, необхідному для проходження статевими гаметами додатка сім'яника (Андрусина І.Н., 2002). Для дослідження динаміки морфологічних змін тварини виводилися з експерименту на 7, 14, 30 та 48 добу експерименту.

Зважений сім'яник висушували у сушильній шафі при температурі 105°C до постійної ваги. Потім тканину спалювали у порцелянових тиглях у муфельній печі при температурі 450°C протягом 48 годин. Шляхом зважування попелу визначалася загальна кількість мінеральних речовин на сухий залишок. Отриманий попіл розчиняли в 10%-ній соляній та азотній кислотах і доводили бідистильованою водою до необхідного об'єму (Погорелов М.В. та співавт., 2010). На атомному абсорбційному спектрофотометрі С-115М1 за загальноприйнятою методикою визначали кількість цинку (довжина хвилі – 213,9 нм), міді (довжина хвилі – 324,7 нм), свинцю (довжина хвилі – 283,3 нм), марганцю (довжина хвилі – 279,5 нм), хрому (довжина хвилі – 357,9 нм), та заліза (довжина хвилі – 248,3 нм). Для визначення вмісту Zn, Cu, та Fe використовували атомізацію в полум'ї, ідентифікація рівня Pb, Mn та Cr

проводилася з використанням електротермічної атомізації в графітовій кюветі, використовуючи приставку «Графіт-1».

Результати досліджень

При визначенні мікроелементного складу тканини сім'яників шурів контрольної групи було встановлено вміст цинку, міді, заліза, марганцю, хрому та свинцю на рівні 51,16-56,07 мг/г, 1,48-1,51 мг/г, 26,13-31,43 мг/г, 0,96-1,07 мг/г, 1,17-1,2 мг/г та 0,07-0,08 мг/г відповідно.

Після 7 діб моделювання гіпермікроелементозного стану відмічається зміна вмісту мікроелементів у тканині сім'яників відносно контрольних даних. Рівні міді, заліза, марганцю, хрому та свинцю зростають відповідно на 129,05% ($p < 0,01$), 42,25% ($p < 0,01$), 25,0% ($p < 0,05$), 52,99% ($p < 0,001$) та 62,5% ($p < 0,05$). На відміну від інших мікроелементів, рівень цинку у тканині сім'яників знижується на 32,41% ($p < 0,05$), незважаючи на його надлишкове надходження в організм.

На 14-у добу підвищеного споживання СВМ виявлено подальше накопичення екзогенних елементів. У порівнянні з контрольною групою, вміст міді зріс на 170,67% ($p < 0,001$), заліза – на 70,47% ($p < 0,001$), марганцю – на 33,33% ($p < 0,01$), хрому – на 70,0% ($p < 0,001$) та свинцю – на 125,0% ($p < 0,001$). Показник цинку знизився, в порівнянні з контролем, на 40,78% ($p < 0,01$) (рис 2).

Досліджуючи вміст мікроелементів у тканині сім'яників шурів після 30 діб, отримані наступні зміни їх концентрації: рівень цинку зменшився на 45,89% ($p < 0,001$), рівні міді, заліза, марганцю, хрому та свинцю зросли на 215,13% ($p < 0,001$), 80,32% ($p < 0,001$), 92,38% ($p < 0,001$), 112,5% ($p < 0,001$) та 177,78% ($p < 0,001$) відповідно.

На 48-у добу експерименту вміст міді зріс до 270,2% ($p < 0,001$), заліза – на 95,07% ($p < 0,001$), марганцю – на 170,09% ($p < 0,001$), хрому – на 201,71% ($p < 0,001$) та свинцю – на 266,67% ($p < 0,001$). Показник цинку, в порівнянні з контролем, знизився на 40,78% ($p < 0,001$) (рис 1).

Шляхом аналізу наукових публікацій, які повідомляють про токсичність мікроелементів умовах їх кумуляції в організмі (що спостерігається при модельованому мікроелементозному стані) і негативний вплив на морфофункціональний стан клітин паренхіматозних органів, ендотелій гемокапілярів, в якості спроби корекції ефектів, які викликані мікроелементозом, було вирішено використовувати препарат «Тівортін». Вибір тівортину для корекції ушкоджуючої дії СВМ на організм взагалі, обумовлюється тим, що на передній лінії впливу СВМ опиняється ендотелій гемокапілярів МЦР, в тому числі і сім'яників. Проведення морфофункціонального аналізу змін, виявлених при дії на тканину статевих залоз СВМ та за умов корекції цього негатив-

вного впливу за допомогою препарату "Тівортін" сприяє пошуку пояснення сутності механізмів

репаративних та пристосувальних реакцій тестикулярної паренхіми.

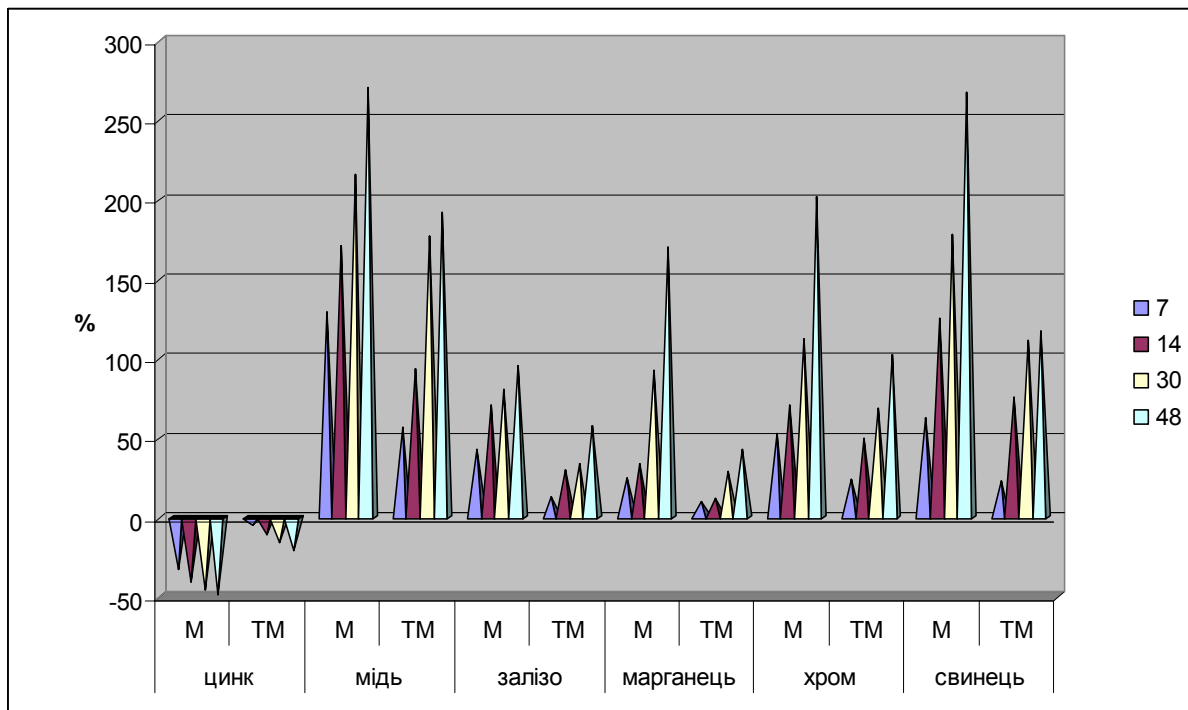


Рис. 1. Динаміка змін мікроелементного складу сім'яників шурів в умовах мікроелементозу та корекції його впливу «Тівортіном» відносно контролю. М – серія тварин, які отримували СВМ, ТМ – серія тварин, які на фоні СВМ отримували «Тівортін».

Для проведення коректного порівняльного аналізу була відібрана серія шурів, яка отримувала препарат для корекції без інших додаткових впливів. Піддослідні тварини, які внутрішньоочеревинно отримували препарат тівортін у дозі 336 мг/кг (Дмитренко, 2008), утворили групу порівняння для серії, в якій шури отримували тівортін на фоні надлишкового аліментарного надходження комбінації мікроелементів.

При визначенні мікроелементного складу тканини сім'яників шурів, які отримували тільки тівортін, вміст цинку, міді, заліза, марганцю, хрому та свинцю визначається на рівні 52,03-58,03 мкг/г, 1,52-1,53 мкг/г, 29,17-32,97 мкг/г, 1,06-1,09 мкг/г, 1,2-1,22 мкг/г та 0,08-0,09 мкг/г відповідно. Вказані результати статистично достовірно не відрізняються від значень вмісту мікроелементів контрольної групи.

При дослідженні мікроелементного складу сім'яників шурів після 7 діб поєднаного впливу комбінації СВМ та тівортіну в порівнянні з групою ізольованого впливу тівортіну, спостерігається підвищення рівнів: міді – на 56,21% ($p < 0,001$), заліза – на 13,27% ($p > 0,05$), марганцю – на 9,43% ($p > 0,05$), хрому – на 23,97% ($p < 0,05$), свинцю – на 22,22% ($p > 0,05$); рівень цинку зменшився на 5,48% ($p > 0,05$).

У порівнянні з тваринами, які впродовж 7 діб отримували воду з СВМ (серія М), рівні вмі-

ту мікроелементів даної серії достовірно менші: міді – на 54,87% ($p < 0,001$), заліза – на 21,52% ($p < 0,05$), марганцю – на 11,67% ($p > 0,05$), хрому – на 32,4% ($p < 0,001$), свинцю – на 30,77% ($p > 0,05$). Виключенням став показник вмісту цинку, який зріс на 42,22% ($p < 0,01$).

На 14 добу експерименту у серіях тварин, які знаходилися в умовах впливу тівортіну (серія Т) та комбінації мікроелементозного стану з тівортином, рівень міді підвищився на 93,42% ($p < 0,001$), заліза – на 30,07% ($p < 0,01$), марганцю – на 11,93% ($p > 0,05$), хрому – на 49,17% ($p < 0,001$), свинцю – на 75,0% ($p < 0,001$). На відміну від інших МЕ, рівень цинку зменшився на 10,6% ($p > 0,05$). При корекції мікроелементозного стану тівортіном виявлено, що рівні накопичення міді, заліза, марганцю, хрому та свинцю зменшуються, відповідно, на 62,56% ($p < 0,001$), 39,15% ($p < 0,01$), 22,14% ($p > 0,05$), 41,18% ($p < 0,05$), 55,56% ($p > 0,05$), а втрата тканинами сім'яників цинку зменшується на 10,6% ($p < 0,01$).

Після 30 діб дослідження вміст МЕ у тварин, які отримували тівортін на фоні мікроелементозного стану, зростав відносно групи порівняння, яка отримувала тільки тівортін. Так, рівень міді зростав на 176,97% ($p < 0,001$), заліза – на 33,5% ($p < 0,01$), марганцю – на 28,7% ($p < 0,001$), хрому – на 68,03% ($p < 0,001$), свинцю – на 111,11% ($p < 0,001$); рівень цинку зменшився

на 15,84% ($p < 0,05$). Впродовж 30 діб корекції мікроелементозного стану тівортіном виявлено, що рівні накопичення міді, заліза, марганцю, хрому та свинцю зменшуються, відповідно, на 68,27% ($p < 0,001$), 43,36% ($p < 0,001$), 46,53% ($p < 0,001$), 52,16% ($p < 0,001$), 64,0% ($p < 0,05$), а втрата тканинами сім'яників цинку зменшується на 15,84% ($p < 0,01$).

При вивченні вмісту МЕ у сім'яниках щурів після 48 діб вживання тівортіну та поєднаного впливу комбінації СВМ та тівортіну, у серії корекції спостерігається підвищення рівнів: міді – на 191,5% ($p < 0,001$), заліза – на 57,14%

($p < 0,001$), марганцю – на 42,2% ($p < 0,001$), хрому – на 102,46% ($p < 0,001$), свинцю – на 116,67% ($p < 0,001$); рівень цинку зменшився на 21,28% ($p < 0,05$).

При корекції мікроелементозного стану тівортіном впродовж 48 діб виявлено, що вплив коректора призвів до зменшення накопичення міді на 72,63% ($p < 0,001$), заліза – на 46,22% ($p < 0,01$), марганцю – на 62,28% ($p < 0,001$), хрому – на 65,44% ($p < 0,001$), свинцю – на 72,73% ($p < 0,05$). Виключенням став показник вмісту цинку, втрата тканинами сім'яників якого зменшується до 60,0% ($p < 0,01$) відносно серії М.

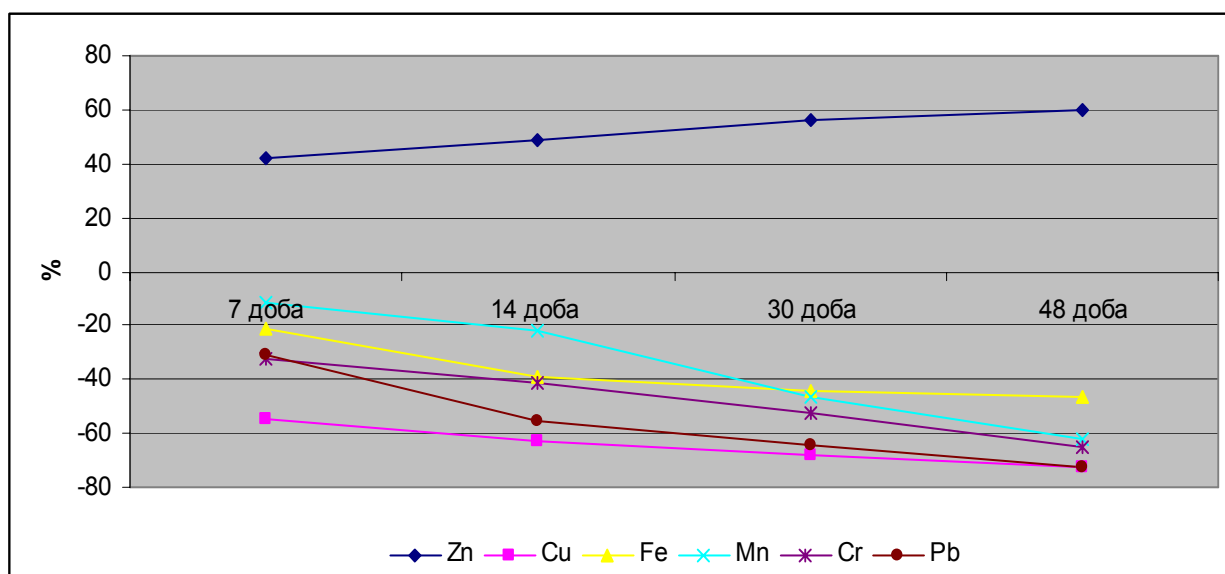


Рис. 2. Динаміка змін мікроелементного складу сім'яників щурів в умовах мікроелементозу та корекції його впливу «Тівортіном».

Обговорення результатів

Як показують результати нашого дослідження, при одночасному аліментарному надходженні цинку, заліза, міді, марганцю, хрому та свинцю в надлишкових та порогових концентраціях, у тканинах сім'яників відбувається зниження рівня цинку на 40,78% нижче контрольного при накопиченні інших досліджуваних МЕ вище контрольного від 95,07% (залізо) до 270,2% (мідь) після 48 діб експерименту. Пояснення подібного феномена можна знайти в працях А.П.Авцина з колегами (1991), А.В.Скального (2004), М.Л.Алонсо із співавторами (2004), де показуються взаємовідносини між МЕ, які можуть бути як синергічними, так і антагоністичними. При чому, синергізм або антагонізм може проявлятися на рівні всмоктування в шлунково-кишковому тракті, рівні транспортних білків, тканинному та клітинному рівнях. Згідно даних літератури, антагоністичний вплив відносно цинку серед МЕ, які досліджувалися, проявляють залізо, мідь, свинець майже на всіх рівнях, синергізм на рівні всмоктування в шлунково-кишко-

вому каналі має хром (А.П.Авцын и соавт., 1991, А.В.Скальний, 2004).

Багато наукових досліджень показують есенціальність МЕ цинку для сім'яників та репродуктивної системи хребетних тварин (S.Yamaguchi et al, 2009). У нашому дослідженні саме рівень цинку зменшується, що, може обумовлювати більш глибоке ушкодження тканини досліджуваного органа.

Застосування препарату «Тівортін» для корекції мікроелементозного стану організму та структури сім'яників показує деяку позитивну динаміку. Так, після 48 діб застосування «Тівортіну» на фоні надходження надлишкової кількості МЕ, виявлено, що рівень накопичення міді зменшився на 72,63% ($p < 0,001$), заліза – на 46,22% ($p < 0,01$), марганцю – на 62,28% ($p < 0,001$), хрому – на 65,44% ($p < 0,001$), свинцю – на 72,73% ($p < 0,05$), втрата тканинами сім'яників цинку зменшується до 60,0% ($p < 0,01$). Проте не можна зробити однозначного висновку про ефективність «Тівортіну» як коректора або корисного фармакологічного препарату за умов мікрое-

лементозного стану організму без детального дослідження морфологічних та функціональних показників досліджуваного органу в умовах корекції зазначеним препаратом.

Висновки

Таким чином, при одночасному надходженні в організм порогових та надлишкових концентрацій таких мікроелементів-важких металів як цинк, мідь, залізо, марганець, хром та свинець у тканині сім'яників відбувається зниження вмісту цинка при накопиченні інших досліджуваних МЕ, що можна пояснити їх антагоністичною взаємодією між собою.

Найбільшу спорідненість до тканини сім'яників проявляють мідь, свинець та хром, рівень накопичення яких перевищується в два-три рази.

Найзначніші зміни мікроелементного гомеостазу в досліджуваному органі виявляються на 48 добу, що підтверджує кумулятивність МЕ-важких металів.

Застосування препарату «Тівортін» для корекції показує певну позитивну динаміку, але більш ґрунтовні висновки можна зробити лише після детального дослідження морфологічних та функціональних показників досліджуваного органу в умовах корекції зазначеним препаратом.

Перспективи подальших досліджень

У подальшому планується вивчити кореляційні зв'язки між морфометричними показниками сім'яників та результатами спермограми щурів в умовах мікроелементозу та його фармакологічної корекції.

Список літератури

- Андрусишина И. Н. Морфофункциональные изменения сперматогенеза при воздействии свинца и кадмия на самцов белых крыс / И. Н. Андрусишина // Современные проблемы токсикологии. – 1999. - №2. – С.22-26.
- Артюхин А. А. Андрологические аспекты в охране репродуктивного здоровья / А. А. Артюхин // Медицина труда и промышленная экология. – 1999. - № 3. – С.16-19.
- Гончарук Є. Г. Вільнорадикальне окислення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих чинників довкілля/ Є. Г. Гончарук, М. М. Коршун // Журнал АМН України. – 2004. – Т.10, №1. – С. 131-150.
- Дмитренко Н. П. Аргинин: биологическое действие, влияние на синтез оксида азота / Н. П. Дмитренко, Т. О. Кишко, С. Г. Шандренко // Український хімотерапевтичний журнал. – 2008. - №1-2. – С.137-140.
- Кореньков О. В. Біомеханічні параметри травмованих довгих кісток скелета в умовах мікроелементозу організму / О. В. Кореньков // Вісник морфології. – 2009. – Т. 15, № 2. – С. 304-308.
- Кравець О. В. Динаміка морфологічних та морфометричних змін підшлункової залози за умов техногенних мікроелементозів / О. В. Кравець // Вісник морфології. – 2009. – Т. 15, № 1. – С. 4-7.
- Макро- та мікроелементи (обмін, патологія, методи визначення) / М. В. Погорелов, В. І. Буйместер, Г. Ф.Ткач [та ін.] – Суми: Видавництво СумДУ, 2010. – 147 с.
- Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / А. П. Авцын, А. А. Жаворонков, М. А. Риш, Л. С. Строчкова. – М.: Медицина, 1991. – 496 с.
- Москаленко Р. А. Морфогенез щитоподібної залози в умовах впливу модельованого мікроелементозу та корекції його впливу глутаргіном / Р. А. Москаленко // Вісник СумДУ, серія Медицина. – 2010. – Т.1, №1. – С.31-38.
- Пикалюк В. С. Пренатальний остеогенез при інтоксикації материнського організму солями свинця і можливості терапевтичної корекції / В. С. Пикалюк, В. П. Белоцерковский // Вісник проблем біології і медицини. – 2006. – Вип. 2. – С. 139–141.
- Сікора В. З. Закономірності накопичення важких металів в легеневій тканині при їх надходженні з питною водою / В. З. Сікора, А. Д. Волкогон // Український морфологічний альманах. – 2008. – Т.6, №1. – С. 62-63.
- Сікора В. З. Морфометричні зміни серця щурів в умовах техногенних мікроелементозів / В. З. Сікора, О. С. Погорелова // Вісник проблем біології і медицини. – 2006. – Вип. 2. – С. 302-304.
- Сікора В. З. Особливості ростових процесів та морфологічних змін у кістках скелета статевозрілих тварин в умовах техногенних мікроелементозів / В. З. Сікора, К. А.Романюк // Вісник СумДУ, серія Медицина. – 2008. – Т.1, №1. – С.11-16.
- Скальный А. В. Биоэлементы в медицине / А. В. Скальный, И. А. Рудаков. – М.: Изд. дом «Оникс 21 век»: Мир, 2004. – 272 с.
- Цебржинский О. И. Прооксидантно-антиоксидантная система семенников и спермы / О. И. Цебржинский, В. Ф. Почерняева, Н. А. Дмитренко – Полтава, 2008. – 101 с.
- Interactions between toxic (As, Cd, Hg and Pb) and nutritional essential (Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se, Zn) elements in the tissues of cattle from NW Spain / M. López Alonso, F. Prieto Montaña, M. Miranda [et al.] // Biometals. - 2004. – Vol. 17, № 4. – P.389-97.
- Zinc is an essential trace element for spermatogenesis / S. Yamaguchi, C. Milura, K. Kikuchi // Proc Natl Acad Sci. – 2009. – Vol.106, № 26. – P.

Романюк А.М., Сауляк С.В., Москаленко Р.А., Москаленко Ю.В., Будко А.Ю. Изменения микроэлементного статуса семенников крыс в условиях повышенного поступления солей тяжелых металлов.

Резюме. В работе представлены результаты исследования ткани семенников 128 крыс, которые в течение 48 суток получали с водой соли цинка, меди, железа, марганца, хрома и свинца. Целью исследования было изучение накопления цинка, меди, железа, марганца, хрома и свинца в ткани семенников при их алиментарном поступлении и в условиях коррекции препаратом «Тивортин». С помощью метода спектрофотометрии в атомно-абсорбционном режиме установлено, что уровень цинка снижается, а других исследуемых элементов повышается. Накопление меди, железа, марганца, хрома и свинца в ткани семенников наиболее выражено после 48 суток эксперимента, наибольшую тропность к органу проявляют медь, свинец и хром.

Ключевые слова: семенники, крысы, соли тяжелых металлов, микроэлементы, тропизм.