

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

Abstract**A. A. Timoshenko,****E. V. Husak,****G. F. Tkach,***Sumy State University,**2 Rimsky-Korsakov st.,**40007, Sumy, Ukraine***CHEMICAL-ANALYTICAL STUDY OF MUSCULOSKELETAL SYSTEM UNDER THE INFLUENCE OF HEAVY METAL SALTS**

Introduction. Among the chemicals, which pollute the environment, heavy metals and their compounds form a large group of toxins that are classified as priority pollutants of environment. Heavy metals in low concentrations are needed for a human body for normal functioning. Living organisms have developed special mechanisms for accumulation of heavy metals during the evolution. When people began to actively pollute the environment, feature to "accumulate" caused excessive accumulation of heavy metals in the body. One of the most vulnerable systems given the ability to accumulate heavy metals is a musculoskeletal one. But for now there are no data about the changes of trace-element composition of musculoskeletal system in response to the toxic effect of the combination of metal salts.

Purpose. To investigate the nature of the chemical composition of musculoskeletal system of white senile rats in condition of using the high concentrations of salts of cooper, lead and manganese.

Materials and Methods. The experiment was performed on 36 white outbred senile rats. The animals were divided into an experimental and a control group (18 rats in each, respectively). Within 90 days creatures of the experimental group were given drinking water with $\text{MnSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ (5 mg/l), $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (3 mg/l) and CuSO_4 (20 mg/l). Animals of the control group during the study used an ordinary quality drinking water. Rats were deduced from experiment: 6 creatures from each group every 30 days by decapitation under ether anesthesia. The lateral head of triceps and femur were studied. Determination of cuprum, chromium, zinc, lead, magnesium and manganese were carried out using spectrophotometer S115-M1, CAS-120.1 (Ukraine) and special computer program «AAS SPEK». Statistical analysis was performed by using the software package SPSS-15. Student's t test (t) was used to determine the reliability of differences. The value of $P < 0.05$ was considered as significant.

Results. After three months of experiment the copper level in the bones increased by 74,12 % ($p < 0,001$), in the muscles – by 26,14 % ($p < 0,001$). The concentration of lead in femur specimens increased by 98,46 % ($p < 0,001$), in samples of calf triceps – by 31,79 % ($p < 0,001$). The level of Mn in striated muscles had increased by 15,26 % ($p < 0,001$), in bones – at 45,11 % ($< 0,001$). There was also the reduction of concentration of zinc by 6,11 % ($p = 0,001$) and iron – by 5,15 % ($p = 0,002$) in skeletal muscles. In comparison, changes of trace-element composition of the bones were also characterized by decreasing of Mg content by 24,68 % ($p < 0,001$).

Conclusion. Chemical-analytical study of musculoskeletal system in conditions of poisoning by salts of copper, lead and manganese showed the increase the concentration of cooper, lead and manganese ions. We

observed a clear correlation between severity of these changes and the term of intoxication. In addition, there is a progressive reduction of zinc and iron in striated muscles and reduction of magnesium in the bone tissue.

Keywords: striated muscle, femur, musculoskeletal system, heavy metal salts, rats.

Corresponding author: transmitter@ukr.net

Резюме

**О. О. Тимошенко,
Є. В. Гусак,
Г. Ф. Ткач,**
Сумський державний
університет,
Римського-Корсакова, 2,
м. Суми, Україна, 40007

ХІМІКО-АНАЛІТИЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СКЕЛЕТНО-М'ЯЗОВОЇ СИСТЕМИ ЗА УМОВ ВПЛИВУ НА ОРГАНІЗМ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Метою роботи було вивчення характеру змін хімічного складу скелетно-м'язової системи білих щурів старечого віку за умов вживання підвищених концентрацій солей марганцю, свинцю та міді. Проведення експерименту здійснювали на 36 білих беспородних щурах. Визначення концентрації хімічних елементів у кістках та поперечносмугастих м'язах виконували за допомогою спектрофотометра С115-М1. У результаті проведеного експерименту виявлено, що потрапляння до організму експериментальних щурів солей міді, свинцю та марганцю зумовлює накопичення іонів відповідних металів у скелетно-м'язовій системі тварин. Також спостерігаються прогресуюче зменшення вмісту цинку і заліза у поперечносмугастих м'язах та зменшення вмісту магнію у кістковій тканині.

Ключові слова: поперечносмугасті м'язи, стегнова кістка, кістково-м'язовий апарат, солі важких металів, щурі.

Резюме

**А. А. Тимошенко,
Є. В. Гусак,
Г. Ф. Ткач,**
Сумський державний
університет,
Римського-Корсакова, 2,
г. Сумы, Украина, 40007

ХИМИКО-АНАЛИТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СКЕЛЕТНО-МЫШЕЧНОЙ СИСТЕМЫ В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ НА ОРГАНИЗМ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Целью работы было изучение характера изменений химического состава скелетно-мышечной системы белых крыс старческого возраста в условиях употребления повышенных концентраций солей меди, свинца и марганца. Эксперимент был выполнен на 36 белых беспородных крысах. Определение концентрации химических элементов в костях и поперечно-полосатых мышцах осуществляли с помощью спектрофотометра С115-М1. В результате проведенного эксперимента выявлено, что попадание в организм экспериментальных крыс солей меди, свинца и марганца вызывает накопление ионов соответствующих металлов в костно-мышечной системе животных. Также наблюдается прогрессирующее уменьшение содержания цинка и железа в поперечно-полосатых мышцах и снижение содержания магния в костной ткани.

Ключевые слова: поперечно-полосатые мышцы, бедренная кость, костно-мышечный аппарат, соли тяжелых металлов, крысы.

Автор, відповідальний за листування: transmitter@ukr.net

Вступ

Упродовж тривалого часу існувало твердження, що важливі біологічні функції виконують тільки макроелементи. Інтерес до впливу

перехідних металів на організм виник нещодавно, сформувавши новий розділ науки – біонеорганічну хімію, що вивчає структуру, властивості й реакції впливу хімічних елементів *in vivo*. У



нормі мікроелементи наявні в організмі у низьких концентраціях, функціонують або у формі гідратованих іонів, або у вигляді координаційних сполук і є метаболічними ядрами фізіологічних процесів. На організм людини і тварин фізіологічна дія металів різна і залежить від природи металу, типу сполуки, в якому він існує у природному середовищі, а також його концентрації. У ряді важких металів одні належать до біогенних елементів, тоді інші викликають протилежний ефект, призводячи організм до отруєння й загибелі [1, 2].

У наслідок антропогенного впливу більшість важких металів стали ксенобіотиками. Значною мірою це пов'язано з біологічною активністю багатьох із них та здатністю накопичуватися в організмі. Основну функцію елементного депо виконує кістково-м'язова система [3]. Біогенна акумуляція хімічних елементів недооцінюється, оскільки не існує механізмів природного очищення від важких металів. Збільшення концентрацій металів в організмі приводить до різних типів взаємодій між ними [4, 5]. Однією з найуразливіших систем, з огляду на здатність накопичувати важкі метали, є кістково-м'язова. Крім того, на сьогодні майже відсутні дані про зміни мікроелементного складу скелетно-м'язової системи у відповідь на комбінований вплив солей металів. На вирішення цієї проблеми і спрямоване це дослідження.

Представлена робота є складовою частиною науково-дослідної теми кафедри анатомії людини Сумського державного університету «Закономірності вікових і конституціональних морфологічних перетворень внутрішніх органів і кісткової системи за умов впливу ендо- і екзогенних чинників і шляхи їх корекції» (номер державної реєстрації 0113U001347).

Мета дослідження – вивчити характер змін хімічного складу скелетно-м'язової системи білих щурів старечого віку за умов вживання підвищених концентрацій солей марганцю, свинцю й міді.

Матеріал і методи дослідження. Експеримент був проведений на 36 білих безпородних щурах старечого віку. Тварин розділяли на експериментальну та контрольну групи (по 18 щурів відповідно). Упродовж 90 діб тваринам першої групи давали питну воду із додаванням солей важких металів, концентрація яких становила Mn^{2+} – 5 мг/л, Pb^{2+} – 3 мг/л та Cu^{2+} – 20 мг/л. Тварини групи контролю під час всього дослідження вживали питну воду, якість якої відпо-

відала санітарним нормам і правилам. Щурів виводили з експерименту по 6 істот із кожної групи через кожні 30 діб шляхом декапітації під ефірним наркозом. Для вивчення брали латеральну головку триголового м'яза литки та стегнову кістку.

Піддослідні тварини доглядалися в умовах віварію Медичного інституту Сумського державного університету відповідно до загальноприйнятих рекомендацій, вимог та положень щодо догляду за лабораторними тваринами («Правила проведення робіт з використанням експериментальних тварин», додаток 4, затверджений Наказом Міністерства охорони здоров'я № 755 від 12 серпня 1997 р., «Загальні етичні принципи експериментів на тваринах», ухвалені Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001 р.); Гельсинська декларація Генеральної асамблеї Всесвітньої медичної асоціації (2000); Положення «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985). Під час проведення експериментальних робіт порушень норм етики та моралі не було.

Для вивчення концентрації хімічних елементів у м'язовій та кістковій тканинах проводили зважування залишків латеральної головки триголового м'яза литки та стегнової кістки на аналітичних вагах ВЛР-200-М, висушування до постійної ваги у заздалегідь прожарених порцелянових тиглях. Після цього здійснювали озолення матеріалу упродовж 15 діб у муфельній печі СНОЛ – 1.6.2.0.0.8/9-М1 У42 при початковій температурі 200 °С із переходом до 450 °С. Після вимірювання ваги сухого залишку проводили його розчинення у суміші соляної (2 мл) та азотної (1 мл) кислот та доводили об'єм розчину до 10 мл бідистильованою водою. Одержаний розчин аналізували на спектрофотометрі С115-М1, КАС-120.1 (Україна) у лабораторії атомно-абсорбційного аналізу Центру морфологічних досліджень СумДУ із визначенням концентрації таких хімічних елементів: 1) мідь (аналітична довжина хвилі 324,7 нм); 2) залізо (248,3 нм); 3) магній (285,2 нм); 4) цинк (213,9 нм); 5) марганець (279,5 нм); 6) свинець (217,0 нм) мкг/г, сиріої маси. Для обчислення даних використовували спеціальну програму «AAS SPECTR».

Статистичну обробку всіх одержаних даних проводили із використанням електронного ста-



тистичного пакета SPSS-15. Потім проводили перевірку на нормальність розподілу величин у вибірках шляхом визначення коефіцієнта асиметрії із застосуванням критерію Уїлкі-Хана-Шапіро та Колмогорова-Смірнова. Припущення про однорідність дисперсій підтверджували за допомогою тесту Лівія. Визначення достовірності відмінностей між двома вибірками проводили із використанням критерію Стьюдента (t). Відмінність вважали достовірною, якщо імовірність випадкової різниці не перевищувала 0,05 ($p < 0,05$).

Результати дослідження. Результати хіміко-аналітичного вивчення зразків скелетно-м'язового апарату щурів інтактної групи старечого віку після першого місяця експерименту наведені у табл. 1. Порівняльний аналіз середніх значень концентрацій досліджуваних мікроелементів виявив, що як у скелетних м'язах, так і в кістковій тканині найбільшим був вміст заліза. Загалом для скелетно-м'язової системи законо-

мірність розподілу вмісту металів мала такий вигляд: Fe > Zn > Cu > Mn > Mg > Pb.

Спектральний аналіз скелетної мускулатури дослідної групи тварин старечого віку після першого місяця інтоксикації солями міді, цинку та марганцю виявив підвищення вмісту міді у скелетних м'язах на 11,56 % ($p < 0,001$), у кістках – на 14,96 % ($p < 0,001$). Концентрація плюмбуму у зразках триголового м'яза зросла на 12,23 % ($p < 0,001$), у стегновій кістці – на 26,59 % ($p < 0,001$). Відзначалося також зростання вмісту марганцю у досліджуваних препаратах скелетно-м'язової системи. Так, у кістковій тканині концентрація останнього зросла на 15,16 % ($p < 0,001$), у м'язовій тканині – на 4,35 %, ($p = 0,031$). Значення концентрацій цинку, магнію та заліза в експериментальній групі були дещо нижчими, ніж відповідні показники в інтактній групі, проте зазначені зміни не мали статистичної значущості (табл. 1).

Таблиця 1 – Результати дослідження мікроелементного складу кістково-м'язової системи щурів старечого віку, що упродовж 30 діб одержували солі цинку, хрому та свинцю, ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	Контроль		Експеримент	
	М'язи	Кістки	М'язи	Кістки
Мідь, мкг/г	2,693 ± 0,032	2,273 ± 0,028	3,005 ± 0,017*	2,613 ± 0,024*
Цинк, мкг/г	21,173 ± 0,121	4,127 ± 0,067	20,840 ± 0,301	4,085 ± 0,114
Свинець, мкг/г	0,234 ± 0,0013	0,862 ± 0,0059	0,262 ± 0,0014*	1,091 ± 0,0121*
Магній, мкг/г	0,369 ± 0,0026	1,874 ± 0,0134	0,368 ± 0,0021	1,771 ± 0,0152
Марганець, мкг/г	0,956 ± 0,0104	2,142 ± 0,0207	1,997 ± 0,0126*	2,466 ± 0,0256*
Залізо, мкг/г	33,412 ± 0,301	62,415 ± 0,526	32,991 ± 0,216	62,146 ± 0,621
* $p \leq 0,05$				

Порівняння результатів хімічного аналізу зразків скелетно-м'язового апарату тварин обох груп старечого віку після двох місяців експерименту наведено у табл. 2. Із наведених даних видно, що вміст тих іонів металів продовжив зростати, солі яких надходили до організму дослідних тварин. На даному етапі концентрація міді у скелетних м'язах збільшилася на 17,95 % ($p < 0,001$), у кістках – на 36,53 % ($p < 0,001$). Вміст свинцю зріс на 24,59 % та 66,11 % у поперечносмугастих м'язах ($p < 0,001$) і кістковій тканині ($p < 0,001$) відповідно. Рівень марганцю у препаратах стегнової кістки

збільшився на 37,52 % ($p < 0,001$), у препаратах латеральної головки триголового м'яза литки – на 7,18 % ($p = 0,019$). Поряд із цим, на відміну від кісткової тканини, у поперечносмугастих м'язах було виявлене достовірне зменшення вмісту цинку та заліза на 3,97 % ($p = 0,024$) і 4,22 % ($p = 0,008$) відповідно. У зразках кісткової тканини спостерігалось статистично значуще зменшення концентрації марганцю порівняно з такими самими показниками в контрольній групі (на 16,23 %, $p < 0,001$).

Динаміка хімічного складу скелетно-м'язової системи щурів старечого віку після завершення



третього місяця експерименту мала ті ж самі закономірності, що і після другого місяця дослідження. Спектральний аналіз виявив збереження зростання концентрації катіонів Pb^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+}

(табл. 3). Спільним для кісток та довільних м'язів було зростання концентрації міді, свинцю та марганцю.

Таблиця 2 – Результати дослідження мікроелементного складу кістково-м'язової системи щурів старечого віку, що впродовж 60 діб отримували солі цинку, хрому та свинцю ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	Контроль		Експеримент	
	М'язи	Кістки	М'язи	Кістки
Мідь, мкг/г	2,711 ± 0,034	2,296 ± 0,043	3,198 ± 0,036*	3,134 ± 0,028*
Цинк, мкг/г	20,987 ± 0,221	4,206 ± 0,077	20,154 ± 0,223*	4,140 ± 0,064
Свинець, мкг/г	0,238 ± 0,0017	0,877 ± 0,0122	0,297 ± 0,0016*	1,456 ± 0,0185*
Магній, мкг/г	0,397 ± 0,0034	1,942 ± 0,0183	0,391 ± 0,0029	1,626 ± 0,0143*
Марганець, мкг/г	0,951 ± 0,0195	2,072 ± 0,0271	1,019 ± 0,0149*	2,849 ± 0,0312*
Залізо, мкг/г	33,391 ± 0,356	61,392 ± 0,636	31,982 ± 0,243*	60,636 ± 0,544
* $p \leq 0,05$				

Таблиця 3 – Результати дослідження мікроелементного складу кістково-м'язової системи щурів старечого віку, що впродовж 90 діб отримували солі цинку, хрому та свинцю ($M \pm m$), $n = 6$

Показник	Контроль		Експеримент	
	М'язи	Кістки	М'язи	Кістки
Мідь, мкг/г	2,743 ± 0,026	2,332 ± 0,019	3,460 ± 0,041*	4,060 ± 0,052*
Цинк, мкг/г	21,128 ± 0,195	4,185 ± 0,082	19,839 ± 0,202*	4,095 ± 0,079
Свинець, мкг/г	0,247 ± 0,0031	0,893 ± 0,0111	0,326 ± 0,0019*	1,772 ± 0,0117*
Магній, мкг/г	0,384 ± 0,0025	1,889 ± 0,0204	0,370 ± 0,0019	1,422 ± 0,0186*
Марганець, мкг/г	0,949 ± 0,0135	1,973 ± 0,0196	1,094 ± 0,0144*	2,863 ± 0,0206*
Залізо, мкг/г	33,472 ± 0,328	62,543 ± 0,549	31,739 ± 0,258*	61,629 ± 0,616
* $p \leq 0,05$				

Так, у кістках вміст міді збільшився на 74,12 % ($p < 0,001$), а у м'язах – на 26,14 % ($p < 0,001$). Концентрація свинцю у препаратах стегнової кістки підвищилася на 98,46 % ($p < 0,001$), у зразках триголового м'яза литки – на 31,79 % ($p < 0,001$). Рівень Mn у поперечно-смугастих м'язах зріс на 15,26 % ($p < 0,001$), у кістках – на 45,11 % ($p < 0,001$). У скелетних м'язах також було виявлене зменшення концентрації цинку на 6,11 % ($p = 0,001$) і заліза – на 5,15 % ($p = 0,002$). Порівняно з цим у кістках

зміна мікроелементного складу характеризувалася зменшенням вмісту Mg на 24,68 % ($p < 0,001$).

Обговорення результатів. Таким чином, аналіз мікроелементного складу кісткової тканини та скелетних м'язів інтактних щурів дав можливість установити діапазони загального вмісту біоелементів, що збігаються з даними, наведеними у літературі [6, 7] і мають такий вигляд: $Fe > Zn > Cu > Mn > Mg > Pb$. Останнє може бути свідченням важливості певних еле-



ментів для структури та функціонування опорно-рухового апарату.

Дослідниками всього світу за останні кілька десятиріч були реалізовані численні праці щодо вивчення вмісту важких металів та їх токсичного впливу на легені, серце, нирки, головний мозок та інші органи й системи [8, 9, 10]. Серед цих публікацій з'явилися й ті, що присвячені дослідженню вмісту солей важких металів у скелетних м'язах та кістках риб і тварин, що населяють території західної Африки, центральної Європи, Близького Сходу та Індії [6, 11, 12, 13]. На сьогодні практично відсутні дані щодо впливу солей важких металів у концентраціях, притаманних водоймам України, на скелетно-м'язовий апарат. У цьому дослідженні ми ви-

вчили вплив на хімічний склад поперечносмугастих м'язів та кісток солей міді, свинцю та марганцю, що відтворювало «мікроелементну» ситуацію водоймищ певних регіонів Сумської області. Результати експерименту показали зростання у тканинах опорно-рухового апарату тих іонів, солі яких у надмірній кількості надходили до організму щурів. Ми також зареєстрували зменшення концентрації цинку і заліза у препаратах скелетних м'язів та зниження вмісту магнію у зразках кісткової тканини після другого та третього місяців інтоксикації солями міді, свинцю та марганцю, що може бути пояснено антигоністичною взаємодією одних металів з іншими.

Висновки

Характер розподілу середніх значень вмісту мікроелементів у скелетно-м'язовій системі інтактних тварин має такий вигляд: Fe > Zn > Cu > Mn > Mg > Pb, що може бути свідченням важливості певних елементів для структури та функціонування опорно-рухового апарату.

Хіміко-аналітичне дослідження скелетно-

м'язового апарату в умовах отруєння солями міді, свинцю та марганцю виявило зростання концентрації іонів тих металів, солі яких надходили до організму. Простежується чітка залежність вираженості зазначених змін від строку інтоксикації. Поряд із цим відзначається прогресуюче зменшення вмісту цинку й заліза у поперечносмугастих м'язах та зменшення вмісту магнію у кістковій тканині.

References (список літератури)

1. Valko M, Morris H, Cronin M. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem.* 2005;12(10):1161–1208. PubMed ID: 15892631
2. Trachtenberg IM. [Priority aspects of environmental health and preventive toxicology]. *Zdorovya Ukrainy.* 2011; 473(21):60–63.
3. Sabine M, Griswold W. Human Health Effects of Heavy Metals. *Environmental Science and Technology Briefs for Citizens.* 2009;15(4):1–6.
4. Duruibe JO, Ogwuegbu MC, Ekwurugwu JN. Heavy metal pollution and human biotoxic effects. *International Journal of Physical Sciences.* 2007;2(5):112–118. Retrieved from: http://www.academicjournals.org/article/article1380209337_Duruibe%20et%20al.pdf
5. Boychuk YD. *Ekologiya I ohorona navkolushniogo seredovuwa: Navch. Posib.* [Ecology and environmental protection: Training guidances]. Sumy–Kyiv, 2005. 302 p.
6. Kumar B, Mukherjee DP, Kumar S, Mishra M, Prakash DS, Singh K, Sharma CS. Bioaccumulation of heavy metals in muscle tissue of fishes from selected aquaculture ponds in east Kolkata wetlands. *Annals of Biological Research.* 2011;2(5):125–134.
7. Gusak YeV, Pogorelov MV, Tkach GF, Danilchenko SM, Bumeyster VI, Gordienko YeV, Sikora VZ, Sukhodub LF. [Trace-element composition of long and mixed bones in the norm]. *Ukrainskuy morphologichnyy almanah.* 2010;8(4):51–55.
8. Sikora VZ, Volkogon AD. [Morphological transformation of lung tissue under the influence of exogenous factors (literature review)]. *Visnuk Sumskogo dergavnogo universitetu.* 2007;2:12–21.
9. Meng Z, Liu Y. Cell morphological ultrastructural changes in various organs from mice exposed by inhalation to sulfur dioxide. *Inhalation Toxicology.* 2007;19(6):543–551. PubMed ID: 17497532
10. Enli Ya, Turgut S, Oztekin O, Demir S, Enli H, Turgut G. Cadmium intoxication of



- pregnant rats and fetuses: interactions of copper supplementation. *Archives of medical research*. 2010;41(1):7–13. doi: 10.1016/j.arcmed.2010.03.003
11. Edem CA, Osabor V, Iniana G, Etium R, Eke J. Distribution of Heavy Metals in Bones, Gills, Livers and Muscles of (Tilapia) *Oreochromis niloticus* from Henshaw Town Beach Market in Calabar Nigeria. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2009;8(8):1209–1211.
 12. Heidary S, Imanpour NJ, Monsefrad F. Bioaccumulation of heavy metals Cu, Zn, and Hg in muscles and liver of the stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) in the Caspian Sea and their correlation with growth parameters. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*. 2012;11(2):325–337.
 13. Martiniakova M, Omelka R, Stawarz R. Accumulation of lead, cadmium, nickel, iron, copper and zinc in bones of small mammals from polluted areas of Slovakia. *Pol. J. Environ. Stud*. 2012;21(1):153–158.

(received 25.11.2015, published online 28.12.2015)

(одержано 25.11.2015, опубліковано 28.12.2015)

