

Аналіз отриманих даних дозволяє констатувати, що на тлі охолодження одноразове введення окситоцину і мелатоніну сприяє пригніченню проявів інволюції бурси Фабріціуса у птахів порівняно з птахами, що піддавались охолодженню. Це проявляється розмноженням бурсозалежних лімфоцитів і збільшенням площі фолікулів бурси, тоді як холодний стрес викликає спустошення паренхіми фолікулів бурси і відповідно зменшення їхніх розмірів.

Коли птахам на тлі утримання у повній темряві вводили окситоцин або мелатонін, спостерігали аналогічний ефект як у попередніх серіях дослідів на тлі охолодження, тобто нами також зроблено висновки про пригнічення морфологічних ознак інволюції у бурсі Фабріціуса під впливом окситоцину та мелатоніну за умов дії темряви.

Наведені вище дані узгоджуються з даними інших авторів про стимулюючий вплив мелатоніну на лімфоїдні органи [7, 8] та регулюючий вплив нонапептидів гіпоталамуса на функції імунної системи [6].

Таким чином, у підсумку можна зазначити, що окситоцин і мелатонін здійснювали адаптаційний ефект на прояви інволюції бурси Фабріціуса птахів при охолодженні та темряві.

Висновки. Досліджені види стресу (охолодження та темряви) мають пошкоджуючий вплив на бурсу Фабріціуса у птахів. Про це свідчить розвиток морфологічних ознак інволюції (зменшення площі перерізу кіркової та мозкової речовини фолікулів бурси). При охолодженні тварин протягом 3-х днів морфологічні показники інволюції бурси Фабріціуса не змінюються порівняно з 1-м днем охолодження, тоді як на 7-й день відбувається відновлення структури фолікулів бурси. Це можна пояснити посиленням процесів проліферації В-лімфоцитів у більш віддалені терміни охолодження, що є результатом активації компенсаторно-приспосувальних можливостей організму. При вивченні процесів реадaptaції

птахів після дії темряви до нормального світлового режиму (14 год світло і 10 год темряви) встановлено, що на 3-й день реадaptaції відбувається поглиблення інволюції у бурсі. Далі на 7-й день реадaptaції відбувається відновлення процесів розмноження та диференціації бурсозалежних лімфоцитів. Гормони окситоцину і мелатоніну на тлі стресу (охолодження або темряви) пригнічують прояви інволюції бурси Фабріціуса, тобто мають виражений адаптаційний вплив на розвиток компенсаторно-приспосувальної реакції птахів на стрес.

1. Акмаев И.Г., Гриневич В.В. От нейроэндокринологии к нейроиммунноэндокринологии // Бюллетень экспериментальной биологии. – 2001. – Т. 131. – N. 1 – С. 22 – 31.
2. Футорный С.М., Позур В.К. Состояние иммунной системы под влиянием стресса // Иммунология та алергология. – 2005. – N 1. – С. 48 – 52.
3. Elizabeth A. Koutsos, Kirk C. Klasing Factors modulating the avian immune system // Avian Immunology, Edited by: Fred Davison, Bernd Kaspers and Karel A. Schat. – Elsevier Ltd., 2008. – P. 323-338.
4. Sushil K. Mahata, Monisha De, Dhananjay Pal Asok Ghosh Effect of stress on the catecholamine content of the adrenal gland of intact and bursectomized chicks // Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. – 2007. – Vol. 17, N 11. – P. 805 – 808.
5. Williams A.E., Davison T.F. Enhanced immunopathology induced by very virulent infectious bursal disease virus // Avian Pathol. – 2005. – Vol. 34, N 1. P. 4 – 14.
6. Кузник Б.И., Патеюк А.В., Джулай М.А., Данилишин Б.Ю., Чипизубова Н.С. Влияние цитомединов из передней и задней долей гипофиза на иммунитет и гемостаз у гипопизэктомизированных цыплят // Иммунология. – 2005. – Т. 26. – С. 287 – 292.
7. Moore C. B., Siopes T. D., Steele C. T., Underwood H. Pineal melatonin secretion, but not ocular melatonin secretion, is sufficient to maintain normal immune responses in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) // General and Comparative Endocrinology. – 2002. – Vol. 126, N 3. – P. 352 – 358.
8. Siopes T.D., Underwood H.A. Diurnal variation in the cellular and humoral immune responses of Japanese quail: Role of melatonin // General and Comparative Endocrinology. – 2008. – Vol. 158, N 15. – P. 245 – 249.
9. Nurhaya Gülmez, Sahin Aslan. Histological and histometrical investigations on bursa of Fabricius and thymus of native geese // Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences. – 1999. – Vol. 23. – P. 163 – 171.
10. Nagy N., Magyar A., Toth M., Olah I. Quail as the chimeric counterpart of the chicken: morphology and ontogeny of the bursa of Fabricius // J Morphol. – 2004. – Vol. 259, N 3. – P. 328 – 339.

Надійшла до редколегії 15.10.09

УДК 577.32(34)

К. Богуцька, канд. біол. наук,
П. Мінченко, канд. біол. наук

ВПЛИВ ІОНІВ КАДМІЮ НА СУПЕРПРЕЦИПІТАЦІЮ АКТОМІОЗИНУ СЕРЦЕВОГО ТА СКЕЛЕТНИХ М'ЯЗІВ

У представленій роботі досліджено вплив іонів кадмію на реакцію суперпреципітації актоміозину серцевого м'яза бика та скелетних м'язів кроля. Результати проведених досліджень свідчать, що іони кадмію за своєю дією виявляють інгібуючий вплив на реакцію суперпреципітації актоміозину серцевого та скелетних м'язів.

In the represented work the influence of cadmium ions on the reaction of superprecipitation of the both bull cardiac and rabbit skeletal muscles actomyosin has been investigated. The results of the conducted investigations testify that cadmium ions on their action on the cardiac and skeletal muscles actomyosin are inhibiting of the reaction of superprecipitation.

Вступ. В останні десятиліття спостерігається зростання техногенного навантаження на довкілля, у результаті якого в ньому збільшується кількість різних токсичних речовин, їхніх метаболітів, у тому числі і важких металів. Призводячи до різних патологій, ці фактори значною мірою впливають на життєдіяльність людини. Особлива роль належить важким металам, зокрема і іонам кадмію [1, 6, 9]. Кадмій є одним з продуктів радіоактивного розпаду, що накопичується в організмі людини та тварин, це токсичний елемент та антиметаболіт деяких есенціальних елементів. Основні шляхи надходження кадмію в організм – це шлунково-кишковий тракт та органи дихання. Обмін кадмію характеризується такими основними особливостями: 1) відсутністю ефективного механізму гомеостатичного контролю; 2) тривалим утриманням зі значним періодом напіввиведення, що становить для людини в середньому до 25 років; 3) інтенсивною взаємодією з іншими двовалентними металами як у процесі всмоктування, так і на тканинному рівні, тобто кадмій спричиняє виражену дію на обмін в

організмі деяких мікроелементів (цинк, кальцій, мідь, залізо, селен) та ін. [1]. Хронічна кадмієва інтоксикація, відома під назвою "ітай-ітай", вперше була виявлена в Японії. На сьогодні відомі та описані кадміози у людини (гостре і хронічне отруєння цим мікроелементом): 1) кадмієвий риніт; 2) кадмієва нефропатія з типовою протеїнурією; 3) кадмієва остеомаляція; 4) нейротоксичний синдром [1, 6]. Кадмієва кардіоміопатія, гіпертонія, емфізема легень та ураження печінки ще потребують додаткових експериментальних досліджень.

За останні роки вивчався вплив кадмію на організм у широкому аспекті: від його розподілу в тканинах до впливу на окремі структури (мембрани, білки, мітохондрії). Встановлено, що кадмій здатний до значного рівня кумуляції в організмі, є дослідження щодо впливу кадмію на різні процеси: він ініціює вільнорадикальне окислення ліпідів, є причиною пошкодження мембранних ліпопротеїнів, інактивації ферментів, пригнічення поділу клітин та ін. [5-8, 10]. Деякі сполуки кадмію відносять до шкідливих хімічних речовин, що мають прямий

© Богуцька К., Мінченко П., 2010

органо-тканинний тропізм до серцево-судинної системи. На жаль, взаємодія цих катіонів із скоротливими білками різних м'язів вивчена недостатньо і потребує подальших досліджень.

Об'єкт і матеріали досліджень. Актomioзин серцевого м'яза бика та скелетних м'язів кроля виділяли за загальноприйнятими методиками. Кінетику суперпреципітації (СПП) актоміозину реєстрували за зміною оптичної густини актоміозину на спектрофотометрі СФ-26, використовуючи електронний потенціометр КСП-4, та на спектрофотометрі "Spekord M-40". Реакційна суміш для реакції СПП актоміозину містила 20 мМ трис-НСІ (рН 7.5) та відповідні концентрації катіонів, наведені нижче. СПП ініціювали додаванням до середовища АТФ. Про перебіг реакції суперпреципітації судили за величиною часу $t_{1/2}$, упродовж якого оптична густина актоміозину зростала до величини $D/2$, де D – оптична густина актоміозину після завершення реакції СПП. Ступінь СПП визначали за величиною $D-D_0$, де D_0 – оптична густина актоміозину до початку реакції СПП, або за величиною максимального зростання оптичної густини актоміозину. Також проводили розрахунок початкової швидкості (v_0) перебігу реакції суперпреципітації актоміозину.

Результати та їх обговорення. При дослідженні впливу іонів Cd^{2+} на суперпреципітацію актоміозину серцевого м'яза було показано, що вже в невеликих концентраціях цей катіон проявляв інгібуючу дію. При додаванні до реакційної суміші 0,01 мМ Cd^{2+} спостерігалось незначне зниження ступеня СПП по відношенню до контролю (крива 2). При більш високих концентраціях іонів кадмію (від 0,05 до 0,5 мМ) його вплив на реакцію СПП актоміозину значно зростав. Так, збільшення концентрації цього катіона від 0,05 до 0,5 мМ супроводжувалось сповільненням перебігу реакції СПП (початкова швидкість реакції СПП зменшувалась з 82 до 56 %, відповідно, порівняно з контролем) та значним зменшенням (від 0,7 до 0,45) ступеня СПП (криві 3-5). Наступне збільшення концентрації іонів кадмію до 1 мМ (крива 6) призводило до майже повного інгібуювання реакції СПП.

Суперпреципітацію актоміозину скелетних м'язів кроля вивчали в присутності деяких двовалентних катіонів, що давало змогу оцінити вплив іонів кадмію на реакцію СПП в порівняльному аспекті. Як видно із рис. 2, додавання до розчину актоміозину АТФ і іонів кальцію (крива 1), або іонів стронцію (крива 2) викликало реакцію СПП актоміозину, яка характеризувалась високою швидкістю з $t_{1/2} \approx 1$ хв., а преципітат, який при цьому утворювався, характеризувався значними за розмірами преципітуючими структурами ("грубий преципітат"). На відміну від іонів кальцію і стронцію, іони магнію (крива 3) значно сповільнювали реакцію СПП актоміозину ($t_{1/2} = 12$ хв.). Степінь реакції СПП у цьому випадку був у 2 рази вищим, ніж це реєструвалось на кривих 1 і 2 для іонів кальцію і стронцію, а сама реакція СПП завершувалась утворенням "тонкого преципітату", що складався з дуже дрібних преципітуючих структур. Іони марганцю (крива 4) за характером свого впливу на реакцію СПП актоміозину значною мірою були подібні до іонів магнію. Реакція СПП в цьому випадку мала такий же степінь СПП і завершувалась утворенням "тонкого преципітату", але, на відміну від іонів магнію, ці катіони значно прискорювали реакцію СПП. Що стосується іонів кадмію (крива 5), то їх додавання до реакційної суміші призводило до повного блокування проходження реакції СПП.

Здатність іонів кадмію до пригнічення спостерігалась і при дослідженні АТФазної активності актоміозинового комплексу міокарда [3], що за характером впливу іонів кадмію узгоджується з отриманими результатами по перебігу реакції суперпреципітації актоміозину серцевого

та скелетних м'язів. Ймовірно, іони важких металів здатні заміщувати фізіологічно важливі іони магнію і кальцію на ділянках, що є суттєвими для реалізації реакції суперпреципітації актоміозину, тобто здатні впливати на функціональні характеристики скоротливих білків м'язів.

Раніше вважали, що механізм дії іонів кадмію на скоротливу активність м'язів реалізується через ефективне блокування Ca^{2+} -каналів. Однак з часом було показано, що вплив Cd^{2+} на м'язи не обмежується тільки блокуванням Ca^{2+} -каналів, а ще також можливий його опосередкований вплив на процес фосфорилування легких ланцюгів міозину, що каталізується кальмодулін-залежною кіназою легких ланцюгів. Cd^{2+} здатний адсорбуватись на Ca^{2+} -зв'язуючих ділянках кальмодуліна та завдяки цьому впливати на активність ферменту. Очевидно, що вплив іонів кадмію може проявлятися ще і на рівні функціонування АТФазної системи актоміозину.

Патологія серцево-судинної системи на сьогодні є важливою проблемою в медичній науці та практиці охорони здоров'я. Це пов'язано з високою захворюваністю серця і судин, смертністю та ін. Враховуючи те, що кадмій – токсичний метал, небезпідставно розглядати його роль в патологічних станах організму [2, 10]. Проводилось вивчення вмісту кадмію та свинцю в крові хворих на кардіоміопатію та з'ясування їх впливу на перебіг захворювання при підвищеному надходженні металів з середовища. При вивченні всмоктування хлориду кадмію з шлунково-кишкового тракту і його розподілу в органах та тканинах людини та тварин було виявлено, що раціон збалансований за цинком самий сприятливий для зменшення всмоктування радіоактивного ізотопу кадмію. Цинк при надходженні до організму разом з кадмієм виявляв по відношенню до нього антагоністичний ефект. Також корекція кадмієвої інтоксикації можлива і при надходженні до організму селену.

Було виявлено [4], що змодельована патологія (тривала дія на організм хлориду кадмію) призводить до різнотипних структурно-функціональних змін м'язових клітин різних відділів міокарду, що суттєво змінює структурно-функціональну гетерогенність клітин та міру гетероморфності тканин, від якої залежать компенсаторні можливості міокарду при токсичному ураженні. При дії на організм хлориду кадмію спостерігались неоднакові пошкодження кардіоміоцитів. В одних серцевих м'язових клітинах домінувало переважно пошкодження міофібрил, що виражалось їхнім лізисом та контрактурами, в інших досліджуваних клітинах переважав набряк мітохондрій з деструкцією крист, а також виявлялось домінування розширення каналців саркоплазматичної сітки. Відмічалися і клітини з вираженим набряком та просторовою дезінтеграцією ультраструктур. Ці кардіоміоцити характеризувались тотальним розрідженням цитоплазми, роз'єднанням органелів та суттєвим зменшенням кількості глікогену. У даних кардіоміоцитах мали місце синтетичні процеси, що призводили до гіпертрофії та гіперплазії ультраструктур (мітохондрій та міофібрил). Кардіоміоцити неоднаково реагували на екзогенний хімічний фактор. Отримані та проаналізовані результати свідчать, що під впливом хлориду кадмію структурно-функціональні зміни були більш вираженими в шлуночках серця порівняно з передсерддями. Отже, дія на організм хлориду кадмію призводила до мозаїчних структурних змін кардіоміоцитів, що змінює ступінь гетероморфності, яка істотно впливає на компенсаторні можливості частин ураженого серцевого м'яза. Таким чином, детальне і різнобічне вивчення впливу іонів металів представляє перспективну проблему, яку необхідно враховувати при діагностиці та профілактиці уражень м'язів.

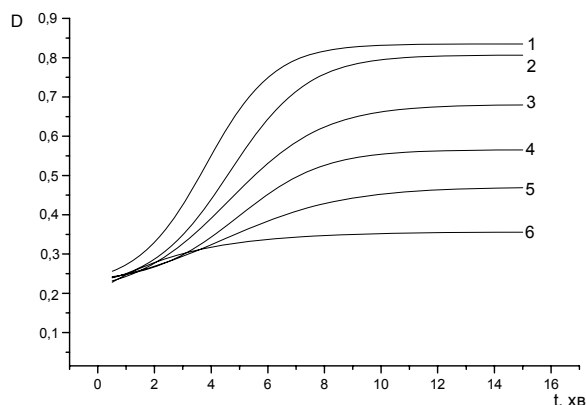


Рис. 1. Кінетичні криві реакції суперпреципітації актоміозину серцевого м'язу при додаванні різних концентрацій CdCl_2 (мМ): 1 – без Cd^{2+} (контроль); 2 – 0,01; 3 – 0,05; 4 – 0,1; 5 – 0,5; 6 – 1.

Реакційна суміш для СПП містила 20 мМ трис- HCl , pH 7.5, 0,15 М KCl , 1 мМ MgCl_2 , 0,1 мМ CaCl_2 (контроль) або 0,01-1 мМ хлориду кадмію. Концентрація актоміозину в сумарному об'ємі проби 2 мл становила 0,1 мг/мл. Кінетику СПП актоміозину реєстрували за зміною оптичної густини при довжині хвилі 450 нм, температура 25 °C

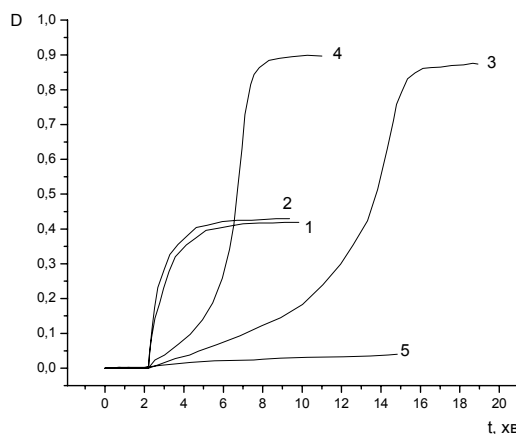


Рис. 2. Кінетичні криві реакції суперпреципітації актоміозину скелетних м'язів при додаванні АТФ і іонів кальцію (1), стронцію (2), магнію (3), марганцю (4), кадмію (5). Концентрація актоміозину – 0,2 мг/мл, АТФ – 0,1 мМ, іонів магнію – 0,3 мМ, кальцію, стронцію, марганцю і кадмію – 1 мМ.

Кінетику СПП актоміозину реєстрували за зміною оптичної густини при довжині хвилі 400 нм, температура 20 °C

Висновок. Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про те, що іони кадмію пригнічують реакцію суперпреципітації актоміозину серцевого та скелетних м'язів.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження мають значення для поглиблення уявлень про функціонування скоротливих білків м'язів за умов впливу на них іонів важких металів з метою обґрунтованої корекції при патологічних станах організму.

1. Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. – М.: Медицина, 1991. – 496 с. 2. Богомазов М.Я., Гарибян Г.М. Влияние содержания цинка в рационе экспериментальных животных на всасывание, распределение и накопление хлорида кадмия в организме при различных путях его введения // Вопросы питания. – 1992. – № 4. – С. 51-53. 3. Богуцька К.І., Данилова В.М., Мірошніченко М.С. Вплив факторів зовнішнього середовища (іонів металів) на функціональні характеристики актоміозину міокарда // Екологічні проблеми міст і промислових зон: шляхи їх вирішення: Матеріали міжнар. конф. студентів і молодих вчених. – Львів: Сполом, 2003. – С. 75-78. 4. Гнатюк М.С.,

Пришляк А.М. Особливості структурно-функціональної гетерогенності кардіоміоцитів при токсичному ураженні міокарда // Укр. морфолог. альманах. – 2006. – Т. 4, № 2. – С. 37-40. 5. Гонський Я.І., Ястремська С.О., Бойчук Б.Р. Вікові особливості порушення перекисного окислення ліпідів і активності енергозабезпечувальних ферментів при кадмієвій інтоксикації // Мед. хімія. – 2001. – Т. 3, № 1. – С. 16-19. 6. Нейко Є.М., Губський Ю.І., Ерстенюк Г.М. Інтоксикація кадмієм: токсикокінетика і механізм біоцидних ефектів (огляд літератури і власних досліджень) // Журн. АМН України. – 2003. – Т. 9, № 2. – С. 250-261. 7. Островская С.С., Гарец В.И., Талько В.В. Морфология артерий сердца и аорты у крыс после комбинированного воздействия облучения, солей кадмия и свинца // Морфология. – 2007. – Т. 1, № 1. – С. 100-105. 8. Слюзова О.В. Экотоксикологическое влияние кадмия на антиоксидантные процессы млекопитающих в модельной системе белых крыс и их потомства: Дис...канд. биол. наук. – Саратов, 2008. – 153 с. 9. A special issue on metal toxicity // Archives of Toxicology (Springer Berlin / Heidelberg). – 2008. – Vol. 82, № 8. 10. Heni J., Messaoudi I., Hamouda F., Kerkeni A. Protective effects of selenium (Se) and zinc (Zn) on cadmium (Cd) toxicity in the liver and kidney of the rat: Histology and Cd accumulation // Food and Chemical Toxicology. – 2008. – Vol. 46, № 11. – P. 3522-3527. 11. Koyu A., Gokcimen A., Ozguner F., Bayram D.S., Kocak A. Evaluation of the effects of cadmium on rat liver // Mol. Cell Biochem. – 2006. – Vol. 284, № 1-2. – P. 81-85.

Надійшла до редколегії 07.10.09