ФИЗИОЛОГИЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ/HUMAN AND ANIMAL PHYSIOLOGY

DOI: https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.138.97

ОЦЕНКА ВОЗДЕЙСТВИЯ МАРГАНЦА НА АДАПТАЦИОННЫЕ РЕАКЦИИ КРЫС ЛИНИИ WISTAR

Научная статья

Казакова Т.В.[1, *], Сизова Е.А.[2]
[1] ORCID : 0000-0003-3717-4533;
[2] ORCID : 0000-0002-6518-3632;
[1, 2] Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, Оренбург, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (vaisvais13[at]mail.ru)

Аннотация

Целью настоящего исследования явилась оценка адаптационных реакций организма крыс линии Wistar в условиях повышенного воздействия марганца. Для проведения эксперимента было отобрано 20 крыс линии Wistar, из которых были сформированы две группы: контрольная (n=10) и опытная (n=10). Животные контрольной группы получали основной рацион, а животные опытной группы – основной рацион с добавлением пятиводного сульфата марганца в течение 4 недель. В условиях хронического воздействия марганца в организме лабораторных животных развивалась общая неспецифическая адаптационная реакция активации, которая у 42% животных соответствовала реакции спокойной активации и у 33% животных – реакции повышенной активации. Полученные результаты свидетельствуют о напряжении механизмов адаптации организма.

Ключевые слова: адаптационные реакции организма, стресс, марганец, крысы.

AN EVALUATION OF THE EFFECTS OF MANGANESE ON ADAPTIVE RESPONSES IN WISTAR LINE RATS

Research article

Kazakova T.V.[1, *], Sizova Y.A.[2]
[1] ORCID : 0000-0003-3717-4533;
[2] ORCID : 0000-0002-6518-3632;
[1, 2] Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russian Federation

* Corresponding author (vaisvais13[at]mail.ru)

Abstract

The aim of the present study was to evaluate the adaptation reactions of the organism of Wistar line rats under conditions of increased exposure to manganese. For the experiment, 20 Wistar rats were selected, from which two groups were formed: control (n=10) and experimental (n=10). The animals of the control group received the basic diet, and the animals of the experimental group – the basic diet with addition of pentavalent manganese sulphate for 4 weeks. Under conditions of chronic exposure to manganese in the organism of laboratory animals a general non-specific adaptation reaction of activation was developed, which in 42% of animals corresponded to the reaction of calm activation and in 33% of animals – to the reaction of increased activation. The obtained results indicate the tension of adaptation mechanisms of the body.

Keywords: adaptive reactions of the body, stress, manganese, rats.

Введение

Оренбургская область является одним из наиболее неблагоприятных в экологическом плане регионов России, располагающим крупной многоотраслевой промышленностью [1]. В связи с этим, жизнедеятельность населения, проживающего на данной территории, находится в условиях значительной техногенной нагрузки, обусловленной загрязнением внешней окружающей среды объектами топливно-энергетического, металлургического и агропромышленного комплексов [2].

Согласно оценке гидрохимического состояния и загрязнения подземных вод, в данном регионе наблюдается повышенное содержание такого тяжелого металла, как марганец [3]. По данным Л.В. Голинской и соавторов, максимальная средняя концентрация марганца в одном из регионов области превышает предельно допустимые концентрации (ПДК) для хозяйственно-питьевой воды в 2,3 раза [4]. По информации Росгидрометра, почвы Оренбургской области относятся к умеренно опасной категории загрязнения тяжелыми металлами, содержание марганца в которых превышает ПДК в 1,7 раза [5].

Важно отметить, что такая неблагополучная экологическая ситуация усиливает напряжение функционального состояния организма, которое отражается на характере адаптационных реакций. Оценка состояния неспецифических адаптационных реакций является одной из характеристик здоровья и может сигнализировать о донозологических изменениях [6]. В связи с этим, актуальность изучения характера адаптационных механизмов к неблагоприятным условиям окружающей среды не вызывает сомнений. Адаптационные возможности не всегда оказываются достаточны для нормального функционирования организма в неблагоприятной экологической обстановке, что может приводить к срыву адаптационных механизмов и развитию разного вида патологий [7]. Известно, что марганец, являясь потенциальным токсикантом, при повышенном экзогенном воздействии способен приводить к нарушениям со стороны центральной нервной системы, а также иммунной и кровеносной [8], [9].

В связи с этим, целью исследования явилась оценка адаптационных реакций организма крыс линии Wistar в условиях повышенного воздействия марганца.

Методы и принципы исследования

Настоящее исследование было проведено в экспериментально-биологической клинике (виварий) ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук» (г. Оренбург). Эксперимент выполнен на модели крыс линии «Wistar» в соответствии с протоколами Женевской конвенции и принципами надлежащей лабораторной практики (Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ 33044-2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики»), а также согласно рекомендациям «The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press Washington, D.C. 1996)». Дизайн эксперимента был одобрен локальным этическим комитетом ФНЦ БСТ РАН (№ 4 от 05.02.2019).

Для проведения эксперимента было отобрано 20 половозрелых крыс, из которых были сформированы две группы: контрольная (n=10) и опытная (n=10). Животные контрольной группы получали основной рацион (ОР), животные опытной группы – ОР с добавлением пятиводного сульфата марганца ($MnSO_4 \times 5H_2O$) в дозе 1433 мг/кг в течение 28 дней. Подбор дозы соли марганца был проведен на основе данных информационных систем GESTIS Substance Database и Европейского агентства по химическим веществам (ECHA).

Весь период эксперимента животных содержали на ОР в виде корма «Дельта Фидс» («БиоПро», г. Новосибирск), со свободным доступом к воде и пище, при температуре 22 ± 1^0C в пластиковых клетках с подстилкой из древесных опилок в условиях искусственного освещения (12-часовой световой день) и приточно-вытяжной вентиляции.

По окончании подготовительного периода осуществлялся отбор проб крови из полостей сердца подопытных крыс путём его пункции в вакуумные пробирки VACUETTE для гематологических исследований цельной крови с ЭДТА-К2. Определение морфологических показателей крови осуществляли на автоматическом гематологическом анализаторе URIT-2900 Vet Plus (Китай). Были оценены такие показатели, как лейкоциты (WBC), лимфоциты (LYM), моноциты (MON), нейтрофилы (NEUT), эозинофилы (EO), базофилы (BA), эритроциты (RBC), гемоглобин (HGB), гематокрит (HTC) и тромбоциты (PLT). На основе полученных данных проводилась оценка реакции адаптации животных по методу Гаркави Л.Х. с соавторами, основанный на определении соотношения относительного содержания в периферической крови лимфоцитов к сегментоядерным нейтрофилам [10].

Обработку полученных данных проводили при помощи методов вариационной статистики с использованием статистического пакета «StatSoft STATISTICA 10». (StatSoft Inc., США). Гипотеза о принадлежности данных нормальному распределению отклонена во всех случаях с вероятностью 95%, что обосновало применение непараметрических процедур обработки статистических совокупностей (U-критерий Манна-Уитни). Полученные данные представлены в виде медианы (Me) и 25-75-го центилей (Q_{25}-Q_{75}).

Основные результаты

В ходе морфологического анализа крови были получены следующие результаты (см. табл. 1).

Таблица 1 - Морфологические показатели крови животных

DOI: https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.138.97.1

Показатели	Контрольная группа	Опытная группа	Референтные значения[#]
WBC, 10^9/л	8,7 (5,23-8,81)	5,13 (3,55-5,96) *	3-17
LYM, %	58,95 (43,9-62,6)	66,9 (58,75-72,85) **	55-83
MON, %	5,45 (3,75-6,6)	6,3 (4,4-12,1)	0-6
NEUT, %	33,75 (27,95-36,35)	23,6 (17,85-29,3)	13-36
EO, %	2,1 (1,5-2,9)	1,9 (1,2-2,77)	0-4
BA, %	0,9 (0,7-1,5)	1,0 (0,6-1,45)	0-1
RBC, 10^{12}/л	6,05 (5,87-6,06)	5,8 (5,5-6,12)	5-10
HGB, г/л	132,0 (116,0-133,0)	128,0 (125,0-130,0)	120-170
HCT, %	42,2 (40,5-42,6)	41,1 (41,0-44,5)	40-50
PLT, 10^9/л	607,5 (506,7-636,5)	564,0 (446,2-605,7) *	200-1500

*Примечание: данные представлены в виде медианы (Me) и 25-75-го центилей (Q_{25}-Q_{75}); *– (p≤0,05), ** – (p≤0,01) – p-уровень при сравнении опытной и контрольной групп; # – согласно данным Sharp P.E. (1998)*

Установлено, что уровень лейкоцитов у крыс, подвергшихся пероральному воздействию марганца, был статистически значимо ниже, чем у животных контрольной группы на 40% (p=0,02). При этом относительное содержание лимфоцитов достоверно превышало контроль на 8% (p=0,01), отмечалась тенденция к снижению нейтрофилов на фоне более высокого содержания моноцитов. Уровень тромбоцитов был достоверно ниже в опытной группе на 7% (p=0,04) относительно контроля. Следует отметить, что полученные результаты сравнивались также с референтными значениями [11]. Выявлено, что практически у всех лабораторных животных, независимо от наличия или отсутствия фактора воздействия, показатели общего анализа крови находились в пределах нормы.

Согласно критерию определения неспецифических адаптационных реакций по лейкоцитарной формуле было выявлено, что изменения в показателях белой крови у животных опытной группы соответствовали реакции активации, что несет основную антистрессорную функцию [11].

При рассмотрении индивидуальных анализов животных было выявлено, что у 33% животных опытной группы отмечалась реакция повышенной активации, процентное содержание лимфоцитов стремилось к верхней границе нормы, в то время как содержание нейтрофилов находилось в пределах нижней зоны нормы; 42% животных опытной группы имели реакцию спокойной активации и только 25% – реакцию тренировки (см. рис. 1).

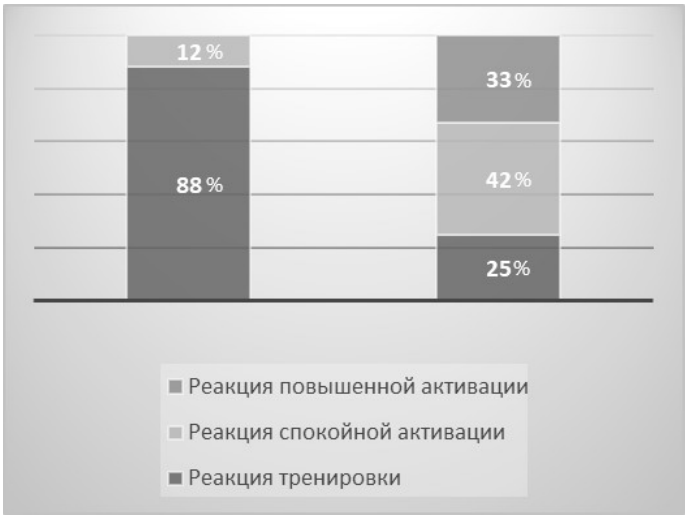

Рисунок 1 - Сравнительная характеристика адаптационных реакций крыс
DOI: https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.138.97.2

Следовательно, организм лабораторных животных включает защитные системы в ответ избыточное поступление марганца, что соответствует оптимальному уровню защиты организма.

Обсуждение

Уникальное открытие отечественных ученых адаптационных реакций дает возможность ученым оперативно в динамике оценивать реакцию организма на всевозможные воздействия, внешней среды [12]. Исследования, проведенные Л.Х. Гаркави, М.Н. Уколовой и Е.Б. Квакиной в 1970-х годах, свидетельствуют о том, что в организме могут развиваться несколько типов адаптационных реакций – реакция на слабые воздействия, реакция на воздействие средней силы и реакция на сильные чрезвычайные воздействия [13], [14]. При действии на организм факторов слабой силы в организме развивается общая неспецифическая адаптационная реакция, которая называется «реакция тренировки». При действии на организм раздражителей средней силы развивается особая общая неспецифическая адаптационная реакция, которая называется «реакция активации», которая несет основную антистрессорную функцию. В свою очередь авторы подразделили её на реакции спокойной и повышенной активации. В период данных реакций происходит самая быстрая перестройка защитных сил организма в ответ на воздействие негативных факторов [15]. При воздействии на организм сильнодействующих факторов формируется реакция переактивации, суть которой заключается в стремлении организма сохранить активацию в ответ на непосильное воздействие негативного фактора и защитить организм от стресса, являющегося основой целого ряда патологических состояний [16].

Результаты проведенного исследования продемонстрировали изменения адаптационных реакций организма в условиях повышенного воздействия марганца. Полученные данные свидетельствуют о достоверно высоких значениях адаптационных реакций при встрече с новыми, неизвестными ранее факторами среды. В совокупности, данные наблюдения дают основание рекомендовать проведение комплекса профилактических мероприятий по предупреждению развития негативных последствий воздействия марганца [17].

Заключение

В условиях хронического воздействия марганца в организме лабораторных животных развивается общая неспецифическая адаптационная реакция активации, которая у 42% животных соответствует реакции спокойной активации и у 33% животных соответствует реакции повышенной активации, что свидетельствует о напряжении механизмов адаптации организма.

Финансирование

Исследования проводились в соответствии с планом научно-исследовательских работ ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН (FNWZ-2022-0011).

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Funding

The research was carried out in accordance with the plan of research works of FSBSI FSC BST RAS (FNWZ-2022-0011).

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Скальный А.В. Элементный статус населения России. Часть 4. Элементный статус населения Приволжского и Уральского федеральных округов / А.В. Скальный, Л.И. Афтанас, Е.С. Березкина [и др.] — СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2013. — 576 с.

2. Сальникова Е.В. Микроэлементный статус населения Оренбургской области / Е.В. Сальникова, Т.И. Бурцева, А.В. Скальный // Экология человека. — 2019. — № 1. — С. 10-14.

3. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году: Государственный доклад. — М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2021. — 256 с.

4. Соловых Г.Н. Результаты многолетних исследований биологического эффекта токсического действия воды и донных отложений уральского бассейна на территории оренбургской области / Г.Н. Соловых, Н.В. Винокурова, Т.В. Осинкина [и др.] // Оренбургский медицинский вестник. — 2017. — Т. 1. — № 17. — С. 52-61.

5. Состояние загрязнения атмосферы в городах на территории России за 2018 г: ежегодник. — Санкт-Петербург: Росгидромет, 2019. — 251 с.

6. Аршавский И.А. Биологические и медицинские аспекты проблем адаптации и стресс в свете данных физиологического онтогенеза / И.А. Аршавский // Актуальные вопросы современной физиологии. — М.: Наука, 1976. — С. 144-191.

7. Трифонова Т.А. Оценка адаптационного состояния студентов: монография / Т.А. Трифонова, Н.В. Мищенко, И.А. Климов. — Владимир: Аркаим, 2016. — 94 с.

8. Erikson K.M. Manganese: Its Role in Disease and Health // K.M. Erikson, M. Aschner // Met Ions Life Sci. — 2019. — R. 253-266.

9. Balachandran R.C. Brain Manganese and the Balance between Essential Roles and Neurotoxicity / R.C. Balachandran, S. Mukhopadhyay, D. McBride [et al.] // J Biol Chem. — 2020. — Vol. 295. — № 19. — P. 6312-6329.

10. Гаркави Л.Х. Адаптационные реакции и резистентность организма / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина, М.А. Уколова. — Ростов-на-Дону, 1990. — 224 с.

11. Sharp P.E. The Laboratory Rat / P.E. Sharp; Ed.-in-chief M.A. Suckow. — CRC press, 1998. — 214 p.

12. Киричук А.А. Адаптационные реакции студентов Российского университета дружбы народов из стран Латинской Америки в условиях Московского мегаполиса / А.А. Киричук, Н.А. Черных, Ю.Н. Баева // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. — 2016 — Т. 18. — №. 2-3. — С. 707-711.

13. Гаркави Л.Х. Об общей неспецифической адаптационной «реакции активации», способствующей борьбе организма с опухолью / Л.Х. Гаркави // Вопросы клинической. онкологии и нейроэндокринных нарушений при злокачественных новообразованиях. — Ростов-на-Дону, 1968. — С. 341-348.

14. Гаркави Л.Х. Закономерности развития качественно отличающихся общих неспецифических адаптационных реакций организма: Диплом на открытие № 158 Комитета Совета Министров СССР по делам изобретений и открытий / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина, М.А. Уколова // Открытия в СССР. —1975. — С. 56-61.

15. Гаркави Л.Х. Активационная терапия / Л.Х. Гаркави. — Ростов на-Дону: Изд-во Рост. ун-та, 2006. — 256 с.

16. Баевский Р.М. Оценка адаптационных возможностей организма и риск развития заболеваний / Р.М. Баевский, А.П. Берсенева. — М.: Медицина, 1997. — 235 с.

17. Казакова Т.В. Адаптационные реакции организма на фоне субхронического воздействия марганца / Т.В. Казакова // Материалы IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Агаджаняновские чтения». — 2023. — С. 167-170

Список литературы на английском языке / References in English

1. Skal'nyj A.V. Jelementnyj status naselenija Rossii. Chast' 4. Jelementnyj status naselenija Privolzhskogo i Ural'skogo federal'nyh okrugov [Elemental Status of the Population of Russia. Part 4: Elemental status of the population of the Volga and Ural Federal Districts] / A.V. Skal'nyj, L.I. Aftanas, E.S. Berezkina [et al.] — SPb.: JeLBI-SPb, 2013. — 576 p. [in Russian]

2. Sal'nikova E.V. Mikrojelementnyj status naselenija Orenburgskoj oblasti [Microelement Status of the Population of Orenburg Oblast] / E.V. Sal'nikova, T.I. Burceva, A.V. Skal'nyj // Jekologija cheloveka [Human Ecology]. — 2019. — № 1. — P. 10-14. [in Russian]

3. O sostojanii sanitarno-jepidemiologicheskogo blagopoluchija naselenija v Rossijskoj Federacii v 2020 godu: Gosudarstvennyj doklad [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in the Russian Federation in

2020: State Report]. — M.: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, 2021. — 256 p. [in Russian]

4. Solovyh G.N. Rezul'taty mnogoletnih issledovanij biologicheskogo jeffekta toksicheskogo dejstvija vody i donnyh otlozhenij ural'skogo bassejna na territorii orenburgskoj oblasti [Results of Long-term Studies of the Biological Effect of the Toxic Action of Water and Bottom Sediments of the Ural Basin on the Territory of Orenburg Oblast] / G.N. Solovyh, N.V. Vinokurova, T.V. Osinkina [et al.] // Orenburgskij medicinskij vestnik [Orenburg Medical Bulletin]. — 2017. — Vol. 1. — № 17. — P. 52-61. [in Russian]

5. Sostojanie zagrjaznenija atmosfery v gorodah na territorii Rossii za 2018 g: ezhegodnik [State of Air Pollution in Cities in Russia in 2018: Yearbook]. — Saint Petersburg: Rosgidromet, 2019. — 251 p. [in Russian]

6. Arshavskij I.A. Biologicheskie i medicinskie aspekty problem adaptacii i stress v svete dannyh fiziologicheskogo ontogeneza [Biological and Medical Aspects of Adaptation Problems and Stress in the Light of Physiological Ontogenesis Data] / I.A. Arshavskij // Aktual'nye voprosy sovremennoj fiziologii [Current Issues of Modern Physiology]. — M.: Nauka, 1976. — P. 144-191. [in Russian]

7. Trifonova T.A. Ocenka adaptacionnogo sostojanija studentov: monografija [An Evaluation of Students' Adaptation State: monograph] / T.A. Trifonova, N.V. Mishhenko, I.A. Klimov. — Vladimir: Arkaim, 2016. — 94 p. [in Russian]

8. Erikson K.M. Manganese: Its Role in Disease and Health // K.M. Erikson, M. Aschner // Met Ions Life Sci. — 2019. — R. 253-266.

9. Balachandran R.C. Brain Manganese and the Balance between Essential Roles and Neurotoxicity / R.C. Balachandran, S. Mukhopadhyay, D. McBride [et al.] // J Biol Chem. — 2020. — Vol. 295. — № 19. — P. 6312-6329.

10. Garkavi L.H. Adaptacionnye reakcii i rezistentnost' organizma [Adaptation Reactions and Resistance of the Organism] / L.H. Garkavi, E.B. Kvakina, M.A. Ukolova. — Rostov-on-Don, 1990. — 224 p. [in Russian]

11. Sharp P.E. The Laboratory Rat / P.E. Sharp; Ed.-in-chief M.A. Suckow. — CRC press, 1998. — 214 p.

12. Kirichuk A.A. Adaptacionnye reakcii studentov Rossijskogo universiteta druzhby narodov iz stran Latinskoj Ameriki v uslovijah Moskovskogo megapolisa [Adaptation Reactions of Students of Peoples' Friendship University of Russia from Latin American Countries in the Conditions of Moscow Megapolis] / A.A. Kirichuk, N.A. Chernyh, Ju.N. Baeva // Izvestija Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk [Proceedings of the Samara Scientific Centre of the Russian Academy of Sciences]. — 2016 — Vol. 18. — №. 2-3. — P. 707-711. [in Russian]

13. Garkavi L.H. Ob obshhej nespecificheskoj adaptacionnoj «reakcii aktivacii», sposobstvujushhej bor'be organizma s opuhol'ju [On the General Non-specific Adaptation "Activation Reaction", Contributing to the Organism's Fight against Tumour] / L.H. Garkavi // Voprosy klinicheskoj. onkologii i nejrojendokrinnyh narushenij pri zlokachestvennyh novoobrazovanijah [Issues of Clinical Oncology and Neuroendocrine Disorders in Malignant Neoplasms]. — Rostov-on-Don, 1968. — P. 341-348. [in Russian]

14. Garkavi L.H. Zakonomernosti razvitija kachestvenno otlichajushhihsja obshhih nespecificheskih adaptacionnyh reakcij organizma: Diplom na otkrytie № 158 Komiteta Soveta Ministrov SSSR po delam izobretenij i otkrytij [Laws of Development of Qualitatively Different General Nonspecific Adaptation Reactions of the Organism: Diploma for Discovery No. 158 of the Committee of the USSR Council of Ministers for Inventions and Discoveries] / L.H. Garkavi, E.B. Kvakina, M.A. Ukolova // Otkrytija v SSSR [Discoveries in the USSR]. —1975. — P. 56-61. [in Russian]

15. Garkavi L.H. Aktivacionnaja terapija [Activation Therapy] / L.H. Garkavi. — Publishing House of the Rostov State University, 2006. — 256 p. [in Russian]

16. Baevskij R.M. Ocenka adaptacionnyh vozmozhnostej organizma i risk razvitija zabolevanij [An Evaluation of Adaptive Capabilities of the Organism and the Risk of Disease Development] / R.M. Baevskij, A.P. Berseneva. — M.: Medicina, 1997. — 235 p. [in Russian]

17. Kazakova T.V. Adaptacionnye reakcii organizma na fone subhronicheskogo vozdejstvija marganca [Adaptation Reactions of the Organism on the Background of Subchronic Exposure to Manganese] / T.V. Kazakova // Materialy IV Vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii s mezhdunarodnym uchastiem «Agadzhanjanovskie chtenija» [Proceedings of the IV All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation "Agajanian Readings"]. — 2023. — P. 167-170 [in Russian]