

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТИМУСА И СЕЛЕЗЁНКИ ЛАБОРАТОРНЫХ КРЫС-САМЦОВ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ТАРТРАЗИНА И МЕКСИДОЛА

А.В. ХОХЛОВА, С.Г. ЛЫСЕНКО

ГУ «Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко» (hohlova.tiens@yandex.ru)

FUNCTIONAL CHANGES IN THE THYMUS AND SPLEEN OF LABORATORY RATS-MALES UNDER THE INFLUENCE OF MEXIDOL AND TARTRAZINE

A.V. KHOKHLOVA, G.C. LYSENKO

PI «Taras Shevchenko Lugansk National University» (hohlova.tiens@yandex.ru)

Резюме. В работе приведены данные о негативном воздействии пищевого красителя Тартразина (E-102) на тимус и селезёнку беспородных лабораторных крыс-самцов. Изучено влияние данного красителя на органомерические и гистохимические изменения исследуемых органов. Нивелирование негативного воздействия красителя происходит при одновременном введении красителя и антиоксиданта пролонгированного действия Мексидола.

Ключевые слова: селезёнка, тимус, Тартразин, Мексидол.

Abstract. The paper presents data on the negative impact of Tartrazine food color (E-102) on the thymus and spleen of outbred laboratory male rats. The influence of the dye on organometric and histochemical changes in the investigated organs is shown. The leveling of the negative action of food colorant with the simultaneous introduction of antioxidant (Mexidol) is observed.

Key words: spleen, thymus, Tartrazine, Mexidol.

Тартразин E-102 – один из дешёвых синтетических красителей, получаемый из отходов добычи каменного угля – каменноугольного дёгтя. Применяется в пищевой промышленности для придания жёлтого цвета. Тартразин находится в напитках жёлтых оттенков, конфетах, тортах, пирожных, джемах, желе, мороженом, консервации, овощах, фруктах, горчице, йогуртах, десертах, супах быстрого приготовления, используется в фармакологии и т.д.

Большинство учёных пришли к выводу, что эта пищевая добавка провоцирует деградацию цистеина и цистина. Ещё в 1957 г. медики описали крапивницу, вызванную употреблением красителя. Среди всех больных крапивницей 5–10% приходится на тех, кто получил реакцию на краситель. В медицинской литературе описан синдром Меркельсона–Розенталя, выражающийся поражением лицевого нерва, появлением трещин на языке и отёка Квинке (триада симптомов), спровоцированный ничем иным, как тартразином. Исследования американских учёных показали, что у одного из десяти тысяч человек после употребления пищевой добавки появляются кожные высыпания и другие проявления аллергической реакции.

В подавляющем большинстве стран нормативными актами предусмотрена чёткая доза потребления тартразина. Это 100–150 мг красителя на 1 кг готового продукта или 7,5 мг на 1 кг веса человека. В Украине детальным исследованием тартразина занимались: А.С. Матерненко, В.А. Грудько, В.А. Георгиянц, С.Н. Смирнов, И.А. Белик, Н.И. Баюра.

Мексидол был использован в связи с его антиоксидантными свойствами и способностью стабилизировать биомембраны клеток, активировать энергосинтезирующие функции митохондрий, модулировать работу рецепторных комплексов и прохождение ионных токов. Противопоказанием является индивидуальная непереносимость препарата.

На современном этапе в Украине не соблюдается строгое нормирование тартразина в продуктах питания, что может увеличивать риск патогенного воздействия на организм

человека, а соответственно возможного увеличения заболеваемости и смертности среди населения нашей страны. Недостаточное исследование Тартразина на территории нашей страны и прирост смертности в Украине от заболеваний пищеварительной и иммунной систем обусловили выбор темы исследования.

Было исследовано 90 белых беспородных половозрелых крыс-самцов с массой 200–210 г. Животные были получены из вивария ГУ «Луганский государственный медицинский университет» ЛНР и на протяжении эксперимента содержались согласно требованиям и положениям, установленных «Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей» (Страсбург, 1986). Постановка экспериментов отвечала нормативам «Конвенции по биоэтике Рады Европы» (1997), Хельсинской декларации Международной Ассоциации «О гуманном отношении к животным» (1996–2000), «Общим этическим принципам экспериментов на животных», утверждённых I Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001).

Животные были разделены на 2 группы: первая группа – половозрелые интактные крысы-самцы (контрольная, составляла 30 крыс). Вторая группа (исследуемая, составляла 60 крыс) – крысы-самцы, которым ежедневно в течение двух месяцев вводили высокую дозу Тартразина с помощью желудочного зонда из расчёта 1500 мг/кг. Через месяц (30 дней) исследуемая группа была разделена на 2 равные подгруппы (в каждой по 30 крыс). Подгруппе № 1 продолжали вводить Тартразин, как указано выше, а подгруппе № 2 на фоне введения тартразина параллельно вводили 5% ампулярный раствор Мексидола, который вводили каждый день внутримышечно в дозе 50 мг/кг. Крыс выводили из эксперимента на 3, 10, 15, 24, 45 день после завершения двухмесячного воздействия высокой дозы Тартразина и введения Мексидола, в течение 30 дней по 6 крыс в каждой подгруппе. Забой проводили в одно и тоже время суток (в 10 часов). Животных после эфирного наркоза взвешивали на весах и декапитуировали. После извлечения селезёнки и тимуса их препарировали, определяли массу, взвешивая на лабораторных весах ВЛР–200 с точностью до 0,25 мг, определяли длину, ширину и толщину органов с помощью штангенциркуля с точностью до 0,05 мм. Данные органомерии экспортировали в программу Excel для дальнейшей оценки достоверности отличия, вычисляя коэффициент Стьюдента (t).

Из ткани тимуса и селезёнки готовились криостатные срезы из быстрозамороженных кусочков тканей толщиной 5 мкм. Окрашивали срезы по методу Гематоксилин-Эозин. Полученные препараты рассматривались под люминесцентным микроскопом ЛЮАМ–4 с длиной волны возбуждающего света 360 нм следующими методами: люминесцентно-гистохимический метод Фалька-Хилларпа в модификации Е.М. Крохиной; люминесцентно-гистохимический метод Кросса, Эвена, Роста; метод спектрофлуометрии; метод окраски срезов полихромным толуидиновым синим по Унна.

Было установлено, что в течение всего срока эксперимента у половозрелых крыс-самцов наблюдается уменьшение абсолютных показателей массы, длины, ширины, толщины тимуса и селезёнки, которые оценивались, по сравнению с контрольной группой. Выраженность уменьшения массы тимуса и селезёнки крыс-самцов после завершения 60-ти дневного воздействия высокой дозы Тартразина подгруппе № 1 и введения Тартразина и Мексидола подгруппе № 2 в сравнении с показателями контрольной группы в разные сроки исследования была неодинаковой (табл. 1).

Таблица 1
Выраженность уменьшения массы, длины, ширины, толщины тимуса и селезенки под действием высокой дозы тартразина

Орган	3 сутки	10 сут-ки	15 сут-ки	24сутки	45 сут-ки
Тимус	17,7%**	15,6%*	13,7%*	10,8%*	10,8%*
Селезёнка	14,1%*	13,9%*	11,2%*	10,0%*	10,0%*

Примечание: * – P < 0,05 , ** – P < 0,001

Таблица 2

Выраженность уменьшения массы, длины, ширины, толщины тимуса и селезёнки под действием высокой дозы тартразина и параллельным введением мексидола (P <0,05)

Орган	3 сут-ки	10сутки	15 сут-ки	24 сут-ки	45 сут-ки
Тимус	11,8%	10,3%	7,8%	7,8%	7,8%
Селезёнка	10,0%	8,7%	8,7%	8,7%	8,7%

Уменьшение массы, длины, ширины, толщины исследуемых органов под влиянием высокой дозы Тартразина наблюдается до 24 суток (тимуса на 6,9%, селезенки на 4,1%) и стабилизируется до конца эксперимента, что вероятно свидетельствует о формировании

адаптационных реакций организма к данному периоду (табл. 2).

Анализ органомерических изменений массы, длины, ширины, толщины тимуса и селезёнки под действием высокой дозы Тартразина и параллельным введением Мексидола указывает на меньшую выраженность темпов снижения данных параметров. Суммарные показатели исследуемых органов характеризуются снижением темпа восстановления (тимуса 4%, селезёнки 1,3%) к 15 суткам, которые держатся до конца исследования.

Катехоламины в ответ на введение Тартразина изменяют свою концентрацию в мозговых и корковых тимочитах в сторону уменьшения, а в премедуллярных, субкапсулярных макрофагах, а также в тучных клетках – волнообразно снижаются вплоть до 45 суток изучения. Введение Тартразина также способствует резкому увеличению в тимусе и селезёнке числа В3-метахроматичных тучных клеток по степени созревания гепарина, и Т1-Т2-форм – по степени дегрануляции. В тоже время уровень гистамина резко возрастает (рис.).

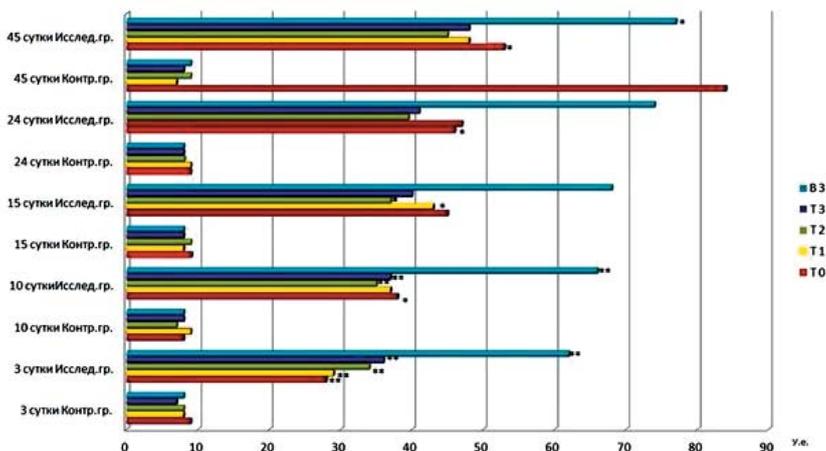


Рис. Изменения состояния мукополисахаридов, гепарина и форм тучных клеток (y.e) в тимусе и селезёнке крыс при введении Тартразина по сравнению с контрольной группой (n=30). Т0, Т1, Т2, Т3 – формы тучных клеток; В3 – состояние тканевых мукополисахаридов и гепарина (*P < 0,05, **P < 0,01).

Установлено, что введение Мексидола приводит к уменьшению выраженности гистохимических изменений показателей тимуса и селезёнки крыс, вызванное действием Тартразина. Катехоламины в ответ на введение Тартразина и одновременным введением Мексидола изменяют свою концентрацию в мозговых и корковых тимочитах в сторону увеличения, а в премедуллярных, субкапсулярных макрофагах, а также в тучных клетках – волнообразно, снижаясь на 10 сутки и вновь повышаясь на 45 сутки (табл. 3).

Таблица 3

Изменения состояний мукополисахаридов, гепарина и форм тучных клеток тимуса и селезенки при введении Тартразина и Мексидола (n=30).

	3 сутки		10 сутки		15 сутки		24 сутки		45 сутки	
	К	И	К	И	К	И	К	И	К	И
T0	3±0,1	—	2±0,4	—	2±0,5	—	2±0,4	—	3±0,5	—
T1	28±0,1	17±0,2	27±0,1	18±0,1**	27±0,1	25±0,3**	28±0,2	26±0,3	28,5±0,1	28±0,2*
T2	18±0,2	11±0,1*	17±0,2	12±0,2**	17±0,2	17±0,5	18±0,2	17,5±0,5*	—	—
T3	3±0,2	2±0,1	4±0,5	3±0,2**	4,5±0,3	4±0,5*	3,5±0,2	4±0,2*	—	—
B2	4±0,5	1±0,1	4±0,2	3,5±0,2**	4±0,4	3,4±0,2**	4,2±0,3	4±0,3*1	4±0,3	4±0,1

Примечание: *P < 0,5; **P < 0,01; К – контрольная группа; И – исследуемая группа

При воздействии Тартразином и введении Мексидола в селезенке практически в 100% популяции тучных клеток занимают T2-формы на 3, 10, 15 сутки воздействия в контрольной группе животных половину популяции тучных клеток составляют T2-формы по степени дегрануляции, остальная часть клеток относится к T1 и T2-формам.

Таким образом: 1) тартразин вызывал уменьшение массы, ширины, длины и толщины тимуса и селезенки лабораторных крыс, что подтверждает наличие изменений в исследуемых органах; 2) мексидол, вводимый в период действия Тартразина, сокращал длительность уменьшения массы, длины, толщины, ширины тимуса и селезенки возникших под влиянием Тартразина, что вероятно, свидетельствует об адаптационных процессах в исследуемых органах при применении антиоксиданта, на фоне введения синтетика, а также о нивелировании эффектов, вызванных Тартразином; 3) мексидол, вводимый в период действия Тартразина, нивелировал негативное воздействие последнего путём плавного восстановления уровня серотонина, катехоламинов и снижения уровня гистамина к концу эксперимента; 4) скорость формирования адаптационных изменений в органах возрастает с 3 суток и стабилизируется к 15 суткам эксперимента; содержание гистамина, серотонина и катехоламинов полностью восстанавливаются к 45 суткам эксперимента, что свидетельствует о воздействии Мексидола на изменения, вызванные Тартразином.

ЛИТЕРАТУРА

- Материенко А.С., Грудько В.А., Георгиянц В.А.** 2008. Разработка методик определения Тартразина в сиропе «ГРИППАУТ БЭЙБИ». Нормальная и патологическая физиология. Харьков: 14–16.
- Белик И.А., Баюра Н.И.** 2014. Органометрические показатели некоторых органов иммунной системы половозрелых крыс – самцов после двухмесячного воздействия высокой дозы Тартразина. *Оригинальные научные публикации*: 90–93.
- Афанасьева М.А.** 2009. Развитие иммунной системы в онтогенезе крыс: нейро-эндокринные иммунные взаимодействия. Автореферат. Москва: 6–21.
- Гуревич С.В., Бондарева К.Г., Арутюнова Г.П., Малышев И.Ю.** 2014. Влияние пищевого красителя Тартразина на хемиллюминесценцию полиморфноядерных лейкоцитов периферической крови у пациентов с непереносимостью Тартразина. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*: 2–4.
- Бибик Е.Ю., Ярова Э.А.** 2011. Анализ спектра пищевых добавок в продуктах питания. *Український медичний альманах*. 14(2): 20–22.
- Ковешников В.Г., Лузин В.И., Маврич В.В.** 2003. Влияние неблагоприятных экологических факторов на морфогенез костной, эндокринной и иммунной систем на ранних этапах постнатального онтогенеза. *Проблемы остеологии*. 6(4): 72–73.
- Нечаев А.П., Кочеткова А.А., Зайцев А.Н.** 2001. Пищевые добавки. М.: Колос: 256 с.
- Pizzi W.J., Barnhart J.E., Fanslow D.J.** 1977. Monosodium glutamate administration to the newborn reduces reproductive ability in female and male mice. *Science*. 196: 452–454.