

УДК: 519.443:[613.648.4+613.37

Г.В. Лукьянцева, В.И. Лузин

ФАЗОВЫЙ СОСТАВ БИОМИНЕРАЛА ТАЗОВОЙ КОСТИ У БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ 60-ДНЕВНОГО ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОГО ВВЕДЕНИЯ ТАРТРАЗИНА В РАЗЛИЧНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ

Национальный университет физического воспитания и спорта Украины, ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

Лукьянцева Г.В., Лузин В.И. Фазовый состав биоминерала тазовой кости у белых крыс после 60-дневного внутрижелудочного введения тартразина в различных концентрациях // Украинский морфологический альманах. – 2013. – Том 11, № 3. – С. 85-87.

Внутрижелудочное введение тартразина в течение 2 месяцев у половозрелых белых крыс сопровождается увеличением степени аморфности биоминерала тазовых костей, выраженность которой прямопропорционально зависит от дозировки вводимого препарата.

Ключевые слова: тартразин, кости, биоминерал, фазовый рентгеноструктурный анализ.

Лук'янцева Г.В., Лузін В.І. Фазовий склад біомінерала кульшової кістки у білих щурів після 60-денного внутрішньошлункового введення тартразину в різних концентраціях // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 3. – С. 85-87.

Внутрішньошлункове введення тартразину протягом 2 місяців у статевозрілих білих щурів супроводжується збільшенням ступені аморфності біомінерала кульшових кісток, вираженість якої прямопропорційно залежить від дозування препарату, що вводиться.

Ключові слова: тартразин, кістки, біомінерал, фазовий рентгеноструктурний аналіз.

Lukyantseva G.V., Luzin V.I. Phase composition of hip bone biomineral in albino rats after two months ingestion of tartrazine at various concentrations // Український морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 3. – С. 85-87.

Intragastric administration of tartrazine duration of 2 months in mature albino rats is accompanied by increasing degree of amorphousness hip bones biomineral, which is directly proportional to the severity depends on the dose of the drug.

Key words: tartrazine, bones, biomineral, phase X-ray analysis.

К пищевым добавкам относится много различных веществ, они широко используются в пищевой промышленности, их ассортимент постоянно меняется [1]. Весьма часто при этом используется тартразин (Tartrazine, E 102) – желтый синтетический краситель [10].

В экспериментальных исследованиях было выявлено гепатотоксическое и нефротоксическое действие тартразина после его употребления в пищу в течение 90 дней [2, 12]. Вместе с тем, сведения о морфогенезе скелета после длительного употребления тартразина в пищу в доступной литературе нам найти не удалось.

Цель исследования: изучить в эксперименте фазовый состав биоминерала тазовых костей у половозрелых белых крыс после 2-месячного употребления в пищу тартразина в различной концентрации. Работа выполнена в рамках плана научных исследований ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» и является составной частью научно-исследовательской работы кафедры нормальной анатомии человека «Морфогенез органов эндокринной, иммунной и костной систем под влиянием экологических факторов» (государственный регистрационный номер № 0110U005043).

Материал и методы исследования. Исследование было проведено на 105 белых беспородных половозрелых крысах-самцах с ис-

ходной массой тела 200-210 г, взятых из вивария ГЗ «Луганский государственный медицинский университет».

Содержание и манипуляции над лабораторными крысами проводились в соответствии с правилами, установленными «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986) [13] и положениями Закона Украины № 3477-IV от 21.02.2006 г. «О защите животных от жестокого обращения».

Подопытные животные были распределены на 3 группы: 1-ю группу составили контрольные животные, которым ежедневно в течение 60-ти дней при помощи желудочного зонда вводился 1 мл 0,9% изотонического раствора натрия хлорида (группа К). 2-ю и 3-ю группы составили крысы, которым ежедневно в течение 60-ти дней при помощи желудочного зонда вводился 1 мл бензоата натрия в дозировке 750 мг/кг и 1500 мг/кг массы тела соответственно (группы T1 и T2).

Эксперимент проводился в летне-зимний период года. В ходе эксперимента крысы содержались в условиях вивария в пластиковых клетках не более 6 особей в каждой. В помещении поддерживалась постоянная температура (20-22°C) и влажность воздуха (40-45%). Эксперимент проводился с обязательным соблюдением циркадных ритмов. Животные

имели свободный доступ к пище и питьевой воде [3]. В ходе эксперимента проводились наблюдения за динамикой массы тела крыс, их общим состоянием и поведением.

Тартразин (производитель RONA DYECHEM PVT LTD (A/44 & A45, Road № 2, MIDC Andheri (East), Mumbai – 400 093, India) производится в форме порошка и относится к группе искусственных красителей, применялся в дозах 750 и 1500 мг/кг массы тела.

Расчёт дозировки вводимых препаратов производили с учётом рекомендаций Ю.Р. и Р.С. Рыболовлевых [9]. Перед введением вычисленная доза на одного животного порошка бензоата натрия растворялась в 1 мл 0,9% изотонического раствора натрия хлорида и полученный раствор вводился крысам при помощи желудочного зонда 1 раз в сутки ежедневно в течение 60-ти дней утром с 7 до 8 часов. Учитывая положительную динамику роста животных в конце каждой недели установленного срока производилась коррекция дозы вводимых пищевых добавок.

По окончании эксперимента (через 3, 10, 15, 24 и 45 дней после окончания введения бензоата натрия) животных декапитировали под эфирным наркозом, выделяли тазовые кости и исследовали методом рентгеноструктурного анализа. Исследование порошка костного вещества, полученного в агатовой ступке, проводили на аппарате ДРОН-2,0 с гониометрической приставкой ГУР-5. Использовали К α излучение меди с длиной волны 0,1542 нм; напряжение и сила анодного тока составляли соответственно 30 кВ и 20 А. Дифрагированные рентгеновские лучи регистрировали в угловом диапазоне от 2° до 37° со скоростью записи 1° в 1 минуту [7, 8]. На полученных дифрактограммах исследовали содержание в костном минерале основных составляющих: витлокита (аморфного фосфата кальция), кальцита (карбоната кальция) и гидроксилapatита по методу внутреннего контроля [5, 11].

Полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики и однофакторного дисперсионного анализа с использованием стандартных прикладных программ [4].

Результаты и их обсуждение. У животных контрольной группы с увеличением возраста в ходе наблюдения параметры элементарных ячеек костного биоминерала изменялись следующим образом. За период наблюдения содержание в биоминерале тазовой кости кристаллического фосфата кальция (гидроксилapatита) увеличилось с $70,38 \pm 0,82\%$ до $73,40 \pm 0,64\%$. Доля аморфных компонентов при этом уменьшалась – витлокита (аморфного трикальцийфосфата) с $13,65 \pm 0,22\%$ до $13,11 \pm 0,23\%$, кальцита (карбоната кальция) – с $15,97 \pm 0,40\%$ до $13,49 \pm 0,88\%$.

Эти данные подтверждают постепенное увеличение степени кристаллизации (а значит и упорядоченности) биоминерала тазовой кости у животных репродуктивного возраста на фоне стабильных процессов костеобразования, описанное в литературе [6, 10].

Внутрижелудочное зондовое ежедневное введение тартразина в дозировке 750 мг/кг массы тела подопытных животных в течение 60 дней (группа Т1) сопровождалось нарушениями его фазового состава. Это проявлялось в том, что на 3 день по окончании воздействия доля кристаллической фазы (гидроксилapatита) была меньше контрольной на 5,09%. При этом процентное содержание в костном биоминерале витлокита и кальцита было больше контрольного на 8,77% и 14,95%.

В период реадaptации после воздействия условий группы Т1 изменения фазового состава костного биоминерала сохранялись до 24 дня наблюдения. При этом содержание кальцита в костном биоминерале было больше показателей контрольной группы с 10 по 24 день наблюдения соответственно на 17,00%, 15,65% и 10,90%, а содержание витлокита на 10 и 15 день – на 9,55% и 7,91%. Доля гидроксилapatита с 10 по 24 день наблюдения была меньше контрольной соответственно на 5,43%, 5,65% и 2,76%.

Внутрижелудочное зондовое ежедневное введение тартразина в дозировке 1500 мг/кг массы тела подопытных животных в течение 60 дней так же, как и в группе Т1, сопровождалось дестабилизацией его фазового состава. Однако выраженность изменений была выше.

На 3 день по окончании воздействия условий группы Т2 процентное содержание в костном минерале кристаллической фазы было меньше, чем в контрольной группе на 5,91%, а доли витлокита и кальцита – больше на 9,63% и 17,82%, что свидетельствует о значительном увеличении степени аморфности.

В периода реадaptации после воздействия условий группы Т2 нарушения фазового состава костного биоминерала сохранялись на протяжении всего периода наблюдения. Содержание в костном биоминерале гидроксилapatита на протяжении всего периода наблюдения было меньше показателей контрольной группы на 6,54%, 6,51%, 4,19% и 2,85%. При это содержание аморфных составляющих оставалось увеличенным: доля кальцита была больше контрольных показателей во все установленные сроки наблюдения соответственно на 21,37%, 19,33%, 11,53% и 11,99%, а доля витлокита на 10 и 15 день – на 10,53% и 8,51%.

Полученные нами результаты сходны с изменениями фазового состава биоминерала тазовых костей после 60-дневного применения натрия бензоата, но выражены сильнее [6]. Можно предположить, что это объясняется

тем, что применение и натрия бензоата, и тартазина, сопровождается активацией процессов перекисного окисления липидов и снижением активности антиоксидантной системы в почках [15]. Это приводит к образованию большого количества свободных радикалов и вызывает повреждения биологических мембран, белков, хроматина ядер клеток и нарушение стабильности специфических ионных каналов и рецепторов.

Однако, тартазин содержит в своей структуре «пиридиновый азот», обладающий сильным комплексообразующим действием [14]. В результате, за счет образования комплексных соединений связываются такие микроэлементы как кобальт, медь и никель, выполняющие ключевые роли во многих ферментных системах, обеспечивающих, в том числе, и процессы минерализации в скелете.

Выводы:

1. Внутривентрикулярное введение тартазина ежедневно в течение 60-ти дней у половозрелых белых крыс сопровождается увеличением степени аморфности биоминерала тазовых костей, выраженность которого зависит от дозировки вводимого препарата.

2. Повышение степени аморфности костного биоминерала проявляется в возрастании содержания в костном минерале аморфных составляющих – витлокита (аморфного трикальцийфосфата) и кальцита (карбоната кальция), а также в снижении содержания кристаллической составляющей – гидроксилатапата (кристаллического фосфата кальция).

3. Введение тартазина в дозировке 1500 мг/кг массы тела подопытным животным сопровождается более значительным увеличением степени аморфности биоминерала тазовых, чем при применении дозировки 750 мг/кг массы тела.

4. В период реадaptации после применения тартазина достоверные фазового состава костного минерала при дозировке 750 мг/кг регистрировались до 24 дня наблюдения, а при дозировке 1500 мг/кг до 45 дня наблюдения.

Перспективы дальнейших исследований. В дальнейших исследованиях планируется изучить кристаллографические характеристики биоминерала костей скелета после длительного применения тартазина.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Булдаков А.С. Пищевые добавки. Справочник / А.С. Булдаков. – Санкт-Петербург: «У», 1996. - 240 с.
2. Головачева В.А. Влияние пищевых красителей на развитие болезней почек у детей (клинико-экспериментальное исследование) / В.А. Головачева // Бюллетень медицинских Интернет-

- конференций. – 2012. - Vol. 2, Issue 1. – P. 7-14.
3. Западнюк В.Г. Лабораторные животные / В.Г. Западнюк, И.П. Западнюк, Е.А. Захария. – К.: Вища школа, 1983. – 383 с.
4. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев: «Морион», 2001. – 210 с.
5. Лузин В.И. Применение рентгеноструктурного анализа для исследования фазового состава костного минерала / В.И. Лузин // Украинський морфологічний альманах. – 2005. - Том 3, №4. – С. 61-64.
6. Лукьянцева Г.В. Фазовый состав биоминерала тазовой кости у белых крыс после двухмесячного употребления в пищу натрия бензоата / Г.В. Лукьянцева // Украинський морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 4 (додаток). – С. 41-44.
7. Миркин А.И. Рентгеноструктурный анализ. Индексирование рентгенограмм: справочное руководство / А.И. Миркин. – М.: Наука, 1981. – 496 с.
8. Подрушняк Е.П. Ультраструктура минерального компонента и прочность костной ткани позвонков у людей различного возраста / Е.П. Подрушняк, А.И. Новохацкий // Ортопедия травматология и протезирование. – 1983. – №8. – С. 15-18.
9. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6, – С. 1513-1516.
10. Сарафанова Л.А. Пищевые добавки: энциклопедия / Л.А. Сарафанова. - СПб.: Изд-во Гиорд, 2004.- 808 с.
11. Фазовый состав минералов тазовой кости при имплантации в большеберцовую кость биогенного гидроксилатапата / В.И. Лузин, А.А. Лубенец, В.В. Стрий, и др. // Травма. – 2009. – Том 10, №2. – С. 216-220.
12. David T. J. Reactions to dietary tartrazine / T. J. David // Arch. Dis. Child. – 1987. – Vol. 62. – P. 119-122.
13. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
14. New considerations regarding the risk assessment on Tartrazine An update toxicological assessment, intolerance reactions and maximum theoretical daily intake in France / M.O. Elhkim, F. Heraud, N. Bemrah, [et al.] // Regul. Toxicol. Pharmacol. – 2007. – Vol. 47(3). – P. 308-316.
15. Piper P.W. Yeast superoxide dismutase mutants reveal a pro-oxidant action of weak organic acid food preservatives / P.W. Piper // Free Radic Biol Med. – 1999. – Vol. 27. – P.1219-1227.

*Надійшла 21.05.2013 р.
Рецензент: проф. Л.Д. Савенко*