

**И.Н. Горяникова**

## **МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЕЛЕЗЕНКИ ПОТОМСТВА КРЫС, УПОТРЕБЛЯВШИХ ТАРТРАЗИН ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ И ВСКАРМЛИВАНИЯ**

*ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»*

**Горяникова И.Н.** Морфофункциональная характеристика селезенки потомства крыс, употреблявших тартразин во время беременности и вскармливания // Украинський морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 2. – С. 10-12.

В результате комплексного морфологического исследования получены данные о морфофункциональном состоянии селезенки потомков крыс от матерей, употреблявших пищевую добавку тартразин во время беременности и вскармливания. В сравнении с группой контроля в изучаемом органе наблюдалась гиперплазия белой пульпы за счет Т- и В-лимфоидного компонентов на фоне угнетения супрессорной и нарастания хелперной активности лимфоцитов, а также усиление макрофагальной реакции, что свидетельствует о большем напряжении иммунных реакций вследствие выраженной антигенной стимуляцией при употреблении E102 матерью.

**Ключевые слова:** селезенка, крыса, патологическая анатомия, тартразин (E102).

**Горянікова І.М.** Морфофункціональна характеристика селезінки нащадків щурів, що вживали тартразин під час вагітності та вигодовування // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 2. – С. 10-12.

В наслідок комплексного морфологічного дослідження отримані данні щодо морфофункціонального стану селезінки нащадків щурів от матерів, які вживали харчовий додаток тартразин під час вагітності та вигодовування. У порівнянні з групою контролю у дослідженому органі спостерігалася гіперплазія білої пульпи за рахунок Т- і В-лімфоїдного компонентів на тлі пригнічення супресорної та зростання хелперної активності лімфоцитів, а також посилення макрофагальної реакції, що свідчить про більшу напругу імунних реакцій внаслідок вираженої антигенної стимуляції при вживанні E102 матір'ю.

**Ключевые слова:** селезінка, щур, патологічна анатомія, тартразин.

**Goryanikova I.N.** Morphofunctional feature of rats' offspring's spleen who applied tartrazine during pregnancy and feeding // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 2. – С. 10-12.

As a result of the complex morphological studies data of the morphofunctional state of the rats' offspring's spleen from mothers who consumed the food additive tartrazine (E102) during pregnancy and breastfeeding was provided. Comparing with the control group in the studying organ hyperplasia at the expense of the white pulp of T -and B- lymphoid components against oppression and growth suppressor activity of helper lymphocytes was observed, as well as increased macrophage reaction, indicating that higher stress of immune responses due to significant antigenic stimulation during consuming of E102 by mother.

**Key words:** spleen, rat, pathological anatomy, tartrazine (E102).

**Постановка проблемы, анализ исследований и публикаций.** Влияние вредных факторов внешней среды, действующих на беременную женщину, на формирование систем и органов плода является актуальной проблемой современной медицины. К таким факторам относятся пищевые добавки, большинство из которых – искусственно созданные вещества, чужеродные для организма. E102 – тартразин (синтетическая пищевая добавка желтого цвета) часто встречается в горчице, мармеладе, желе, мороженом, газированных напитках и др. и согласно классификации пищевых добавок имеет высокий уровень опасности, вызывая пищевую аллергию, мигрень, зуд и нарушения зрения [2]. У детей может вызвать ряд неврологических расстройств, раздражительность, синдром дефицита внимания, гиперактивность, нарушения сна [4,6].

В экспериментальных исследованиях показано, что длительное наличие в рационе крыс тартразина вызывает иммунное воспаление слизистой оболочки желудка, характеризующееся увеличением содержания лимфоцитов и эози-

нофилов [5]. Употребление тартразина как в высоких, так и в низких дозах оказывает негативное влияние на печень, почки и изменение биохимических показателей печени и почек крыс [3].

Однако, до сегодняшнего времени полностью не изучено влияние употребления тартразина беременной женщиной на эмбриогенез плода, в том числе и на его иммунную систему.

**Цель исследования** – определение структурно-функционального состояния селезенки потомков крыс линии Вистар при употреблении их матерями в течение беременности синтетической пищевой добавки тартразина.

**Материал и методы.** Эксперимент проведен на здоровых ранее не спаривавшихся 10 самках крыс линии Вистар, которые с 2-х месячного возраста сначала внутривенно через зонд, затем вместе с пищей получали ежедневно 1 мл 0,1% раствора тартразина. Крысы находились в стандартных условиях вивария. В возрасте 3 месяцев самки подсажены к самцам. После оплодотворения, в течение беременности и вскармливания продолжался прием тартразина в

той же дозе. 10 крысам контрольной группы давали по 1мл воды в том же режиме. Потомство экспериментальных и интактных животных выводилось из эксперимента в 2-х месячном возрасте (декапитация). Материалом для морфологического исследования послужили селезенки 40 особей (20 – от матерей экспериментальной группы и 20 от интактных самок). Забор, фиксация и изготовление парафиновых блоков осуществлялись в соответствии с общепринятыми методиками. Изготавливали серийные поперечные срезы, толщиной 4-6мкм, использовали следующие гистологические и гистохимические окраски: гематоксилином и эозином, пикрофуксином по ван Гизон, по Маллори. Иммуногистохимически прямым методом Кунса в модификации M.Brosman при помощи моноклональных антител к разным типам клеток фирмы Chemicon, USA дифференцировали разные типы клеток (CD3, CD4, CD8, CD45RA, ED1). Препараты изучали в люминисцентном микроскопе ЛЮМАМ-И2 с использованием светофильтров ФС-1, СЗС-24, БС-8-2, УФС-6-3. Путем видеомикроскопической морфометрии с использованием программы «Olympus DP-soft version 3.1» определяли относительные объемы стромально-сосудистого компонента, белой и красной пульпы, стромально-паренхиматозное отношение; относительные объемы основных клонов иммунных клеток. Полученные данные обрабатывались методами вариационной статистики, вероятность различия между двумя средними при малых выборках определяли по таблице Стьюдента. Математический анализ полученных данных проводили на ЭВМ с использованием пакета прикладных программ фирмы Microsoft «EXCEL» [1].

**Результаты исследования.** Микроскопически гистологическая структура селезенки контрольной и исследуемой групп представлена четко. Тонкая капсула органа представлена фуксинофильными соединительнотканными волокнами, между которыми визуализируются немногочисленные фибробласты и гладкие миоциты. В толщу паренхимы от капсулы и ворот органа проникают нежные умеренно фуксино-

фильные трабекулы. Белая и красная пульпа четко дифференцированы во всех наблюдениях. Основу белой пульпы составляют нежные ретикулярные волокна, окрашиваемые по Маллори в синий цвет, в петлях которых располагаются многочисленными лимфоидные фолликулы полигональной формы. В группе контроля белая пульпа представлена фолликулами разных размеров с преобладанием мелких и средних, наличием единичных крупных экземпляров. В экспериментальной группе преобладают фолликулы крупных размеров, встречаются немногочисленные фолликулы средних размеров, мелкие не определяются. В крупных и большинстве средних фолликулов обеих групп четко визуализируется периартериальная Т-зона и более светлая мантийная В-зона. В средних фолликулах периартериальная Т-зона, как правило, четко визуализируется, а В-зона лишь намечается. Все крупные и большинство средних фолликулов имеют активные светлые центры. Периартериальная зона содержит преимущественно малые лимфоциты, а также немногочисленные экземпляры среднего и большого размера. В мантийной зоне визуализируются главным образом малые и средние лимфоциты, отдельные лимфобласты, плазмоциты и макрофаги. Центральная артерия в фолликулах располагается несколько эксцентрично, просвет ее свободен, стенка выстлана высокими эндотелиоцитами со слабо базофильным ядром.

Красная пульпа селезенки исследуемых групп представлена венозными синусами, умеренно фуксинофильными перегородками между ними и селезеночными тяжами. Венозные синусы умеренно полнокровны, выстланы эндотелиоцитами несколько вытянутой формы с округлым слабо базофильным ядром и тонким ободком цитоплазмы. Селезеночные тяжи густоклеточные, сформированы лимфоцитами, макрофагами, плазмоцитами, располагающимися среди нежных ретикулярных волокон, окрашиваемых по Маллори в синий цвет.

Морфометрические показатели структурных компонентов селезенки исследуемых групп представлены в таблице 1.

**Таблица 1.** Относительные объемы основных структурных компонентов селезенки крыс контрольной и экспериментальной групп ( $M \pm m$ ), %

Группа	Относительный объем стромально-сосудистого компонента	Относительный объем белой пульпы	Относительный объем красной пульпы	Стромально-паренхиматозное отношение
Контрольная группа	8,13±1,20	18,22±1,69	73,64±1,93	0,089±0,030
Экспериментальная группа	7,94±1,18	24,67±1,89*	67,40±2,05*	0,093±0,014

**Примечание.** \* $p < 0.05$  (по сравнению с группой контроля)

Полученные данные свидетельствуют о том, что в экспериментальной группе достоверно повышается относительный объем белой пульпы за счет достоверного снижения относительного объема красной пульпы; показатели относительного объема стромально-сосудистого

компонента и стромально-паренхиматозного отношения достоверно не отличаются от соответствующих в контрольной группе.

Иммуногистохимическое исследование показало, что у экспериментальных и интактных животных Т-лимфоциты (CD3, CD4, CD8) ло-

кализуются преимущественно в периаартеральных зонах фолликулов и красной пульпе селезенки, В-лимфоциты (CD45RA) локализованы в светлых центрах и мантийных зонах фолликулов, в красной пульпе. Во всех зонах селезенки

визуализируются макрофаги, моноциты и НК-клетки (ED1). Относительные объемы основных клонов иммунных клеток в исследуемых группах приведены в таблице 2.

**Таблица 2.** Относительные объемы основных клонов иммунных клеток в селезенке крыс контрольной и экспериментальной групп ( $M \pm m$ ), %

Группа	CD3	CD4	CD8	CD45RA	ED1	CD4/CD8
Контрольная группа	34,28±2,08	68,43±2,04	25,33±1,91	51,46±2,19	18,22±1,69	2,69±0,06
Экспериментальная группа	38,44±2,13	74,40±,91	21,74±1,81	55,29±2,18	21,02±1,79	3,42±0,10*

**Примечание.** \* $p < 0.05$  (по сравнению с группой контроля)

Анализ иммунохимических исследований показывает, что в экспериментальной группе по сравнению с контролем отмечается тенденция к увеличению относительного объема популяции CD3 и CD4, тогда как популяции CD8 имеет тенденцию к снижению, что сопровождается достоверным повышением иммунорегуляторного индекса. Кроме того, обнаруживается тенденция к увеличению относительных объемов В-лимфоцитов и макрофагов.

#### **Выводы и перспективы дальнейших работ.**

1. Данные комплексного морфологического исследования селезенки потомков крыс от матерей, употреблявших пищевую добавку тартразин во время беременности и вскармливания, показали, что в сравнении с группой контроля в изучаемом органе наблюдается гиперплазия белой пульпы за счет Т- и В-лимфоидного компонента на фоне угнетения супрессорной активности, нарастания хелперной функции лимфоцитов, а также усилением макрофагальной реакции.

2. Обнаруженные изменения свидетельствуют о большем напряжении иммунных реакций в селезенке потомства, что обусловлено выраженной антигенной стимуляцией при употреблении E102 матерью.

3. Полученные экспериментальные данные могут использоваться для проведения сравнительного анализа морфофункционального состояния селезенки детей, рожденных от женщин, употреблявших пищевую добавку тартразин в течение беременности и вскармливания.

#### **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:**

1. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К: МОРИОН, 2001. – 408 с.

2. Alvarez C.E., Pharmaceutical preparations which contain tartrazine / C.E. Alvarez, S.R. Alcover [et al.] // *Allergol Immunopathol (Madr)*. - 1981. - № 1.- P. 45–54.

3. Amin K.A. Effect of food azo dyes tartrazine and carmoisine on biochemical parameters related to renal, hepatic function and oxidative stress biomarkers in young male rats / K.A. Amin, H. Abdel Hameid, A.H. Abd Elsttar // *Original Research Article Food and Chemical Toxicology*. – 2010. - № 10. – P. 2994-2999.

4. McCann D. Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial / D.McCann, A. Barrett [et al.] // *The Lancet*. - 2007. - № 370 (9598). – P. 1560–1567.

5. Moutinho I.L. Prolonged use of the food dye tartrazine (FD&C yellow no 5) and its effects on the gastric mucosa of Wistar rats / I.L. Moutinho, L.C. Bertges, R.V. Assis // *Brazilian Journal of Biology*. - 2007. - №1. – P. 141–145.

6. Rowe K.S. Synthetic food coloring and behavior: a dose response effect in a double-blind, placebo-controlled, repeated-measures study / K.S. Rowe, K.J. Rowe // *The Journal of Pediatrics*. - 1994. - № 5 (Pt 1). – P. 691–698.

*Надійшла 17.03.2014 р.*

*Рецензент: проф. В.М. Волошин*