

УДК: 519.443:[613.648.4+613.37

Г.В. Лукьянцева СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОКСИМАЛЬНОГО ЭПИФИЗАРНОГО ХРЯЩА ПЛЕЧЕВЫХ КОСТЕЙ У БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ ДВУХМЕСЯЧНОГО УПОТРЕБЛЕНИЯ ТАРТРАЗИНА

Национальный университет физического воспитания и спорта Украины,

Лукьянцева Г.В. Структурно-функциональное состояние проксимального эпифизарного хряща плечевых костей у белых крыс после двухмесячного употребления тартразина // Украинский морфологический альманах. – 2014. – Том 12, №3. – С. 46-51.

60-дневное употребление в пищу тартразина сопровождается снижением морфо-функциональной активности проксимальных эпифизарных хрящей плечевых костей, выраженность и темпы восстановления которого зависят прямопропорционально от дозировки тартразина. Применение на фоне употребления тартразина мексидола из расчета 50 мг/кг массы сопровождалось восстановлением проксимальных эпифизарных хрящей плечевых костей в сравнении с группами с изолированным применением тартразина в дозировках 750 и 1500 мг/кг массы тела.

Ключевые слова: тартразин, кости, эпифизарный хрящ, мексидол.

Лук'янцева Г.В. Структурно-функціональний стан проксимального епіфізального хряща плечових кісток у білих щурів після двомісячного вживання тартразину // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, №3. – С. 46-51.

60-денне вживання тартразину супроводжується зниженням морфо-функціональної активності проксимальних епіфізальних хрящів плечових кісток, виразність і темпи відновлення якого залежать прямопропорційно від дозування тартразину. Застосування на тлі вживання тартразину мексидола з розрахунку 50 мг/кг маси супроводжувалося відновленням проксимальних епіфізальних хрящів плечових кісток у порівнянні з групами з ізольованим застосуванням тартразину в дозуваннях 750 і 1500 мг/кг маси тіла.

Ключові слова: тартразин, кістки, епіфізальний хрящ, мексидол.

Lukyantseva G.V. Histological structure of the proximal epiphyseal cartilage of humerus after 60-day application of tartrazine // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, №3. – С. 46-51.

60-day tartrazine intake results in inhibition of morphological functional activities of proximal epiphyseal cartilage of humerus. Degree and restoration rates directly depend on tartrazine dosage. Administration of mexidol in dosage of 50 mg per kg of body weight had a positive effect on restoration of epiphyseal cartilage of humerus in comparison with groups with isolated administration of tartrazine in dosage 750 or 1500 mg per kg of body weight.

Key words: tartrazine, bones, epiphyseal cartilage, mexidol.

Введение. В настоящее время весьма часто используется тартразин (Tartrazine, E 102) – желтый синтетический краситель [2]. В экспериментальных исследованиях было выявлено гепатотоксическое и нефротоксическое действие тартразина после его употребления в пищу в течение 90 дней [4]. Имеются также сведения и том, что употребление тартразина в течение 60 дней сопровождается и увеличением степени аморфности костного биоминерала у крыс [8]. Вместе с тем, детальные сведения о гистологическом строении реактивных отделов скелета (эпифизарных хрящей и надкостницы) после длительного употребления тартразина в пищу в доступной литературе нам найти не удалось.

Цель исследования: изучить гистологическое строение проксимального эпифизарного хряща плечевых костей у белых крыс после 2-месячного употребления в пищу тартразина в различной концентрации и обосновать

возможности его коррекции мексидолом. Работа является фрагментом межвузовской НИР «Морфогенез различных органов и систем организма при нанесении дефекта в большеберцовых костях после 60-ти дневного введения натрия бензоата или тартразина» (гос. ре-гистр. № 0113U005755).

Материал и методы исследования. Исследование было проведено на 175 белых беспородных половозрелых крысах-самцах с исходной массой тела 200-210 г, взятых из вивария ГУ «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) [10] и положениями Закона Украины № 3477-IV от 21.02.2006 г. «О защите животных от жестокого обращения».

Подопытные животные были распределе-

ны на 5 групп: 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 тартразина в дозировке 750 мг/кг и 1500 мг/кг массы тела соответственно (производитель RONA DYECHEM PVT LTD) (группы T1 и T2). 4-я и 5-я группа – животные, которым наряду с тартразином вводили внутримышечно мексидол из расчета 50 мг/кг массы тела ежедневно (производитель ООО Медицинский центр «Эллара», Российская Федерация) (группы T1M и T2M). Расчёт дозировки вводимых препаратов производили с учётом рекомендаций Ю.Р. и Р.С. Рыболовлевых [9].

Препараты вводили в первой половине дня (как правило с 7⁰⁰ по 8⁰⁰). Учитывая положительную динамику роста крыс 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 тартразина) животных декапитировали под эфирным наркозом, выделяли плечевые кости. Проксимальные эпифизы плечевых костей фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали, обезвоживали и заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 6-8 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и исследовали при помощи окулярного винтового микрометра МОВ-1-15^X ГОСТ 7865-56 по общепринятой методике [1, 7]. При морфометрии проксимального эпифизарного хряща ББК использовалась морфофункциональная классификация В.Г. Ковешникова [5]. Помимо этого в области проксимального метафиза плечевой кости рассчитывали площадь, занятую костными трабекулами, а также количество клеток на их поверхности. Калибровку измерительных приборов производили с помощью миллиметрового отрезка ГОСТ 2 07513-55 2.

Полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [6]. Достоверными считали отличия с уровнем значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Все полученные нами цифровые данные оценивались при обязательном сопоставлении с аналогичными показателями одновозрастных животных контрольной группы.

У контрольных животных проксимальный

эпифизарный хрящ плечевой кости имел достаточно значительную толщину с выраженным зональным строением. Четко дифференцировались зоны согласно морфофункциональной классификации В.Г. Ковешникова [5]: индифферентного, пролиферирующего и дефинитивного хряща, а также зоны деструкции и остеогенеза. Содержание межклеточного вещества в эпифизарном хряще было невелико, а в зоне остеогенеза определялось значительное количество клеток на поверхности костных трабекул и первичной спонгиозы. По мере увеличения возраста животных ширина эпифизарного хряща, а также доля спонгиозы и количество клеток в зоне остеогенеза уменьшались, а содержание межклеточного вещества в хряще постепенно возрастало.

В ходе наблюдения общая ширина проксимального эпифизарного хряща плечевой кости уменьшилась с $523,08 \pm 3,33$ мкм до $488,53 \pm 2,40$ мкм, что происходило за счет пропорционального сужения всех его зон. За период наблюдения ширина зоны индифферентного хряща уменьшалась с $55,03 \pm 0,60$ мкм до $52,50 \pm 0,67$ мкм, зоны пролиферирующего хряща – с $180,19 \pm 2,24$ мкм до $170,08 \pm 1,53$ мкм, зоны дефинитивного хряща – с $146,92 \pm 1,64$ мкм до $63,47 \pm 0,71$ мкм, зоны деструкции – с $71,19 \pm 0,77$ мкм до $62,19 \pm 0,66$ мкм, а зоны остеогенеза – с $69,75 \pm 0,79$ мкм до $61,17 \pm 0,43$ мкм.

С увеличением возраста контрольных животных несколько изменялось и соотношение объемных компонентов в проксимальном эпифизарном хряще плечевой кости. Так, за период наблюдения содержание межклеточного вещества в эпифизарном хряще увеличилось с $34,69 \pm 0,48\%$ до $38,83 \pm 0,43\%$.

В то же время за период наблюдения удельное содержание первичной спонгиозы и удельное количество клеток на поверхности костных трабекул в зоне остеогенеза уменьшились соответственно с $68,06 \pm 0,77\%$ до $64,64 \pm 0,73\%$, и с $59,39 \pm 0,70$ шт./мм² до $54,31 \pm 0,72$ шт./мм².

Наконец, площадь, занятая трабекулами в области проксимального метафиза плечевой кости за период наблюдения уменьшилась с $33,89 \pm 0,39\%$ до $32,78 \pm 0,35\%$, а количество клеток на поверхности костных трабекул в ней – с $62,47 \pm 0,69$ шт./мм² до $61,94 \pm 0,75$ шт./мм².

Внутрижелудочное введение тартразина в дозировке 750 мг/кг массы в течение 60 дней (группа T1) сопровождалось нарушением морфофункционального состояния проксимальных эпифизарных хрящей плечевых костей.

На 3 день после окончания введения тартразина в дозировке 750 мг/кг массы общая

ширина проксимального эпифизарного хряща плечевой кости была меньше контрольных значений группы К на 8,59%, что происходило за счет равномерного сужения всех его зон. Ширина зон индифферентного, пролиферирующего и дефинитивного хряща был меньше значений группы К соответственно на 6,11%, 8,85% и 7,15%, ширина зоны деструкции – на 11,55%, а ширина зоны остеогенеза – на 9,92%.

Объемное содержание первичной спонгиозы в зоне остеогенеза и количество клеток на поверхности трабекул были меньше значений группы К на 8,45% и 8,42%, а объемное содержание межклеточного вещества в эпифизарном хряще – больше на 7,85%.

Наконец, в области проксимального метафиза плечевой кости площадь, занятая трабекулами, и количество клеток на поверхности трабекул были меньше аналогичных значений группы К на 6,97% и 8,23%.

В период реадaptации после внутрижелудочного введения подопытным животным тартразина в дозировке 750 мг/кг выявленные изменения в гистологическом строении проксимального эпифизарного хряща постепенно сглаживались, но и на 45 день наблюдения все еще сохранялись достоверные отличия исследуемых параметров от аналогичных показателей группы К.

Общая ширина проксимального эпифизарного хряща плечевой кости была меньше контрольных значений группы К с 10 по 45 день наблюдения соответственно на 8,55%, 6,81%, 5,00% и 2,43%, а ширина зоны пролиферирующего хряща – на 10,21%, 8,28%, 6,73% и 4,53%. Также, с 10 по 24 день наблюдения ширина зон индифферентного хряща, деструкции и остеогенеза была меньше значений группы К соответственно на 7,19%, 7,58% и 3,35%, 7,72%, 7,50% и 4,94%, и на 8,79%, 5,17% и 5,32%. Наконец, на 10 и 15 день наблюдения ширина зоны дефинитивного хряща оставалась меньше контрольной на 7,34% и 5,05%.

Соотношение объемных компонентов в эпифизарном хряще после воздействия условий группы Т1 также постепенно восстанавливалось.

Объемное содержание первичной спонгиозы в зоне остеогенеза было меньше аналогичных значений группы К с 10 по 24 день наблюдения соответственно на 6,54%, 7,62% и 4,55%, а количество клеток на поверхности костных трабекул – на 10,52%, 7,62% и 5,83% (рис. 1).

В области проксимального метафиза плечевой кости площадь, занятая костными трабекулами, во все сроки наблюдения была меньше аналогичных значений группы К соответственно на 7,54%, 6,12%, 5,77% и 4,66%, а количество клеток на поверхности трабекул – на 9,40%, 8,71%, 6,59% и 3,95%.

Таким образом, введение половозрелым крысам тартразина в дозировке 750 мг/кг массы сопровождается снижением костеобразовательной функции проксимального эпифизар-

ного хряща плечевых костей, которое после прекращения воздействия условий группы Т1 постепенно восстанавливается, но и на 45 день наблюдения сохраняются достоверные отличия некоторых исследуемых показателей от контрольной группы.

Внутрижелудочное введение подопытным животным тартразина в дозировке 1500 мг/кг массы тела в течение 60 дней (группа Т2) сопровождалось более значимым нарушением морфо-функционального состояния прокси-

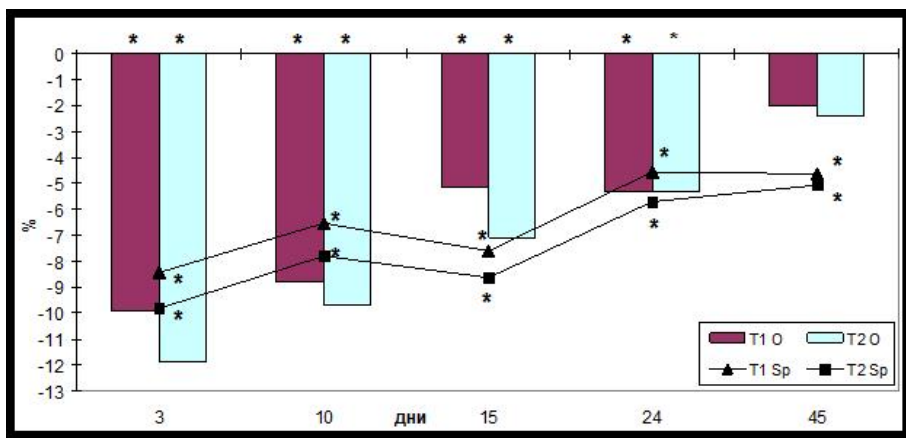


Рисунок 1. Динамика ширины зоны остеогенеза (О) и объемного содержания в ней первичной спонгиозы (Sp) в зависимости от дозировки тартразина и длительности периода реадaptации (в % по отношению к контрольной группе).

Примечание: * - здесь и далее обозначает достоверное отличие от группы сравнения ($p < 0,05$).

мальных эпифизарных хрящей плечевых костей.

На 3 день после окончания введения тартразина в дозировке 1500 мг/кг массы общая ширина проксимального эпифизарного хряща плечевой кости была меньше контрольных значений группы К на 11,52%, что происходило за счет сужения всех его зон. Ширина зон индифферентного, пролиферирующего и дефинитивного хряща была меньше контрольных значений группы К соответственно на 8,68%, 12,19% и 10,57%, ширина зоны деструкции – на 13,62%, а ширина зоны остеогенеза – на 11,91%.

Также, объемное содержание первичной спонгиозы и количество клеток на поверхности трабекул в зоне остеогенеза были меньше значений группы К на 9,84% и 9,49%, а объемное содержание в хряще межклеточного вещества – больше на 9,53%.

Наконец, в области проксимального метафиза плечевой кости площадь, занятая костными трабекулами, и количество клеток на поверхности трабекул были меньше значений группы К на 8,52% и 9,07%.

В период реадaptации после введения подопытным животным тартразина в дозировке 1500 мг/кг выявленные изменения в гистологическом строении проксимального эпифизарного хряща медленно сглаживались, при этом на 45 день наблюдения все еще сохранялись достоверные отличия от аналогичных показателей группы К.

Общая ширина проксимального эпифизарного хряща плечевой кости была меньше аналогичных значений группы К с 10 по 45 день наблюдения соответственно на 10,17%, 9,16%, 6,52% и 2,56%, а ширина зоны пролиферирующего хряща – на 10,39%, 11,44%, 7,79% и 3,76%. Ширина остальных зон была меньше значений группы К с 10 по 24 день наблюдения: зоны индифферентного хряща – на 8,21%, 8,65% и 3,82%, зоны дефинитивного хряща – на 9,83%, 7,09% и 6,48%, зоны деструкции – на 9,79%, 9,74% и 6,54%, зоны остеогенеза – на 9,67%, 7,11% и 5,32%.

В зоне остеогенеза объемное содержание первичной спонгиозы и количество клеток на поверхности костных трабекул были меньше аналогичных значений группы К с 10 по 24 день наблюдения соответственно на 7,79%, 8,65% и 5,71%, и на 11,31%, 8,10% и 6,42%. Также, объемное содержание межклеточного вещества в хряще было больше значений группы К на 10 и 15 день наблюдения на 9,87% и 6,54%.

Наконец, в области проксимального метафиза плечевой кости площадь, занятая кост-

ными трабекулами, и количество клеток на поверхности трабекул были меньше аналогичных значений группы К с 10 по 45 день наблюдения соответственно на 9,32%, 7,61%, 6,86% и 5,08%, и на 9,71%, 9,28%, 7,21% и 4,22%.

Таким образом, введение половозрелым крысам тартразина в дозировке 1500 мг/кг массы сопровождается снижением костеобразовательной функции проксимального эпифизарного хряща плечевых костей, которое после прекращения воздействия условий группы Т1 постепенно восстанавливается, но и на 45 день наблюдения сохраняются достоверные отличия некоторых исследуемых показателей от контрольной группы.

Одновременное введение тартразина в дозировках 750 мг/кг либо 1500 мг/кг и введение мексидола из расчета 50 мг/кг массы тела) сопровождалось и сглаживанием негативного влияния условий эксперимента на морфофункциональное состояние проксимальных эпифизарных хрящей плечевых костей.

Общая ширина проксимального эпифизарного хряща плечевой кости подопытных животных группы Т1М была больше значений группы Т1 с 3 по 45 день наблюдения соответственно на 2,67%, 2,99%, 3,68%, 3,29% и 2,58%, а ширина зоны пролиферирующего хряща на 10, 15 и 45 день – на 3,86%, 4,04% и 4,60%. Также, ширина зоны деструкции была больше значений группы Т1 на 3, 15 и 24 день наблюдения соответственно на 4,81%, 5,35% и 4,59%, а ширина зоны индифферентного хряща на 15 день – на 4,18%.

В зоне остеогенеза объемное содержание первичной спонгиозы на 3, 15 и 24 день наблюдения было больше аналогичных значений группы Т1 соответственно на 4,10%, 3,64% и 4,20%, а количество клеток на поверхности трабекул с 10 по 24 день – на 4,75%, 6,21% и 4,84% (рис. 2).

Наконец, в проксимальном метафизе плечевой кости площадь, занятая трабекулами, на 24 и 45 день была больше значений группы Т1 на 5,50% и 4,09%, а количество клеток на поверхности трабекул на 15 день – на 5,35%.

Таким образом, одновременное внутривенное введение тартразина в дозировке 750 мг/кг массы тела и внутримышечное введение 5% раствора мексидола из расчета 50 мг/кг массы тела сопровождается сглаживанием негативного влияния условий эксперимента на гистологическое строение проксимального эпифизарного хряща плечевой кости. Это проявляется в преобладании показателей, характеризующих костеобразовательную функцию хряща, в группе Т1М над показателями

группы T1 в период с 3 по 45 день наблюдения.

У подопытных животных группы T2M общая ширина проксимального эпифизарного хряща плечевой кости была больше аналогичных значений группы T2 с 15 по 45 день наблюдения соответственно на 3,53%, 3,67% и

2,43%, а ширина зоны деструкции на 15 и 24 день – на 4,55% и 5,06%. Также, на 24 день наблюдения ширина зоны дефинитивного хряща и деструкции была больше значений группы T2 на 4,20% и 3,47%, а на 45 день – ширина зоны пролиферирующего хряща – на 4,34%.

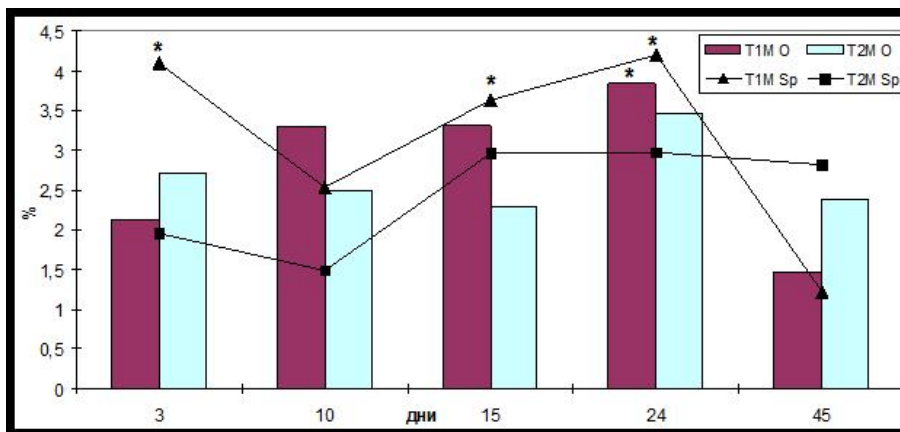


Рисунок 2. Динамика ширины зоны остеогенеза (O) и объемного содержания в ней первичной спонгиозы (Sp) при введении мексидола в зависимости от дозировки тартразина и длительности периода реадaptации (в % по отношению к аналогичной группе без введения мексидола).

Наконец, количество клеток на поверхности костных трабекул в зоне остеогенеза на 24 день было больше значений группы T2 на 4,45%, а площадь, занятая костными трабекулами, в области проксимального метафиза на 24 и 45 день – на 6,10% и 4,11%.

Таким образом, одновременное внутрижелудочное введение тартразина в дозировке 1500 мг/кг массы тела и внутримышечное введение 5% раствора мексидола из расчета 50 мг/кг массы тела сопровождается сглаживанием негативного влияния условий эксперимента на гистологическое строение проксимального эпифизарного хряща плечевой кости. Это проявляется в преобладании показателей, характеризующих костеобразовательную функцию хряща, в группе T2M над показателями группы T2 в период с 15 по 45 день наблюдения.

В. Visweswaran в своих исследованиях показал, что тартразин в тонкой кишке выступает как хелатообразующий агент с молекулами меди, цинка и марганца [11]. При этом, вышеуказанные микроэлементы выступают кофакторами различных ферментов и энергетических циклов, активность которых наиболее высока в хондро- и остеобластах. Следовательно их недостаток также может негативно сказываться на активности костеобразовательной функции эпифизарных хрящей.

Корректирующее влияние мексидола структурно-функциональное состояние проксимальных эпифизарных хрящей на фоне упот-

ребления тартразина, в таком случае, может объясняться наличием у него мембранопротекторного, антиоксидантного, стресспротекторного и антигипоксического действия [3]. В результате негативное влияние тартразина на гистологическое строение эпифизарных хрящей несколько сглаживается.

Выводы:

1. Внутрижелудочное введение тартразина в течение 60-ти дней у половозрелых белых крыс сопровождается нарушением гистологического строения проксимального эпифизарного хряща плечевых костей, выраженность которого зависит от дозировки вводимого препарата.

2. Введение тартразина в дозировке 1500 мг/кг массы сопровождается более значительным нарушением гистологического строения проксимального эпифизарного хряща плечевых костей, чем применение дозировки 750 мг/кг массы.

3. В период реадaptации после применения тартразина достоверные отличия гистоморфометрических параметров проксимального эпифизарного хряща плечевых костей при дозировке 750 мг/кг для некоторых исследуемых показателей регистрировались до 45 дня наблюдения, а при дозировке 1500 мг/кг на 45 день наблюдения сохранялись достоверные отличия для всех исследуемых показателей.

4. В период реадaptации после 60-ти дневного введения тартразина в дозировках 500 и

1000 мг/кг массы тела внутримышечное применение мексидола из расчета 50 мг/кг массы тела сопровождается восстановлением гистологического строения проксимального эпифизарного хряща плечевых костей. При повышении дозы тартразина до 1500 мг/кг выраженность и продолжительность корригирующего влияния введения мексидола уменьшается.

Перспективы дальнейших исследований. В дальнейшем с целью выяснения структурных механизмов угнетения структурно-функционального состояния эпифизарных хрящей в условиях нашего эксперимента планируется изучить макро- и микроэлементный состав различных костей у белых крыс в период реадaptации после 60-ти дневного введения тартразина и использовании в качестве корректора мексидола.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство / Г.Г. Автандилов – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Булдаков А.С. Пищевые добавки. Справочник / А.С. Булдаков. – Санкт-Петербург: «Уб», 1996. – 240 с.
3. Воронина Т.А. Мексидол: основные нейрорепсихотропные эффекты и механизм действия / Т.А. Воронина // Фарматека. – 2009. – №6. – С. 28-31.
4. 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.
5. Ковешников В.Г. Зональное строение эпифизарного хряща / В.Г. Ковешников // Антропогенетика, антропология, спорт. – Винница, 1980. – Т. 2. – С. 251-252.
6. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. – Киев: «Морион», 2001. – 210 с.
7. Лузин В.И. Функциональное состояние проксимального эпифизарного хряща большеберцовой кости при имплантации в нее керамического гидроксилapatита и деминерализованного костного матрикса / В.И. Лузин, Е.П. Бережной // Украинський морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, №2. – С. 123-125.
8. Лукьянцева Г.В. Фазовый состав биоминерала тазовой кости у белых крыс после 60-дневного внутрижелудочного введения тартразина в различных концентрациях / Г.В. Лукьянцева, В.И. Лузин // Украинський морфологічний альманах. – 2013. – Том 11, № 3. – С. 85-87.
9. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – Том 247, № 6. – С. 1513-1516.
10. 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.
11. Visweswaran B. Oxidative Stress by Tartrazine in the Testis of Wistar Rats / B. Visweswaran, G. Krishnamoorthy // Journal of Pharmacy and Biological Sciences. – 2012. – Vol. 2, Issue 3. – P. 44-49.

*Надійшла 09.04.2014 р.
Рецензент: проф. А.Д. Савенко*