

УДК 591.8:57.08:599.323.4

Морозов В.Н.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДИСПЕРСИОННОГО АНАЛИЗА В ОЦЕНКЕ ВЛИЯНИЯ
ФАКТОРОВ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ТАРТРАЗИНА И НАНЕСЕНИЯ ДЕФЕКТА
В БОЛЬШЕБЕРЦОВЫХ КОСТЯХ НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ
ЩИТОВИДНОЙ, ОКОЛОЩИТОВИДНЫХ ЖЕЛЕЗ И НАДПОЧЕЧНИКОВ КРЫС**

Научный консультант – д.м.н., профессор В.И. Лузин

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, г. Белгород

В настоящей работе осуществлена оценка влияния фактора введения тартразина и фактора нанесения дефекта в большеберцовых костях крыс на морфо-функциональные показатели щитовидной, околощитовидных желез и надпочечников белых половозрелых крыс после двухмесячного введения тартразина в дозах 750 и 1500 мг/кг массы тела, а также дальнейшего нанесения травмы в костях (вторая и третья группы соответственно). В щитовидной железе фактор длительного введения тартразина в дозах 750 и 1500 мг/кг достоверно влияет на ядерно-цитоплазматическое отношение фолликулярных эндокриноцитов щитовидной железы с 3 по 45 сутки эксперимента (сила влияния фактора находилась в диапазоне 43,48%-24,78% во второй группе и 71,13%-37,62% в третьей группе), а фактор нанесения дефекта – во второй группе на 10, 15 сутки (41,01%, 47,08%) и в третьей группе на 10 сутки (37,05%). При этом, влияние обоих факторов на просвет-эпителиальный индекс статистически не значимо. В околощитовидных железах сила влияния фактора нанесения дефекта на индекс функциональной активности главных эндокриноцитов больше (68,14%-80,52% во второй группе и 51,46%-63,58% в третьей группе), чем фактора введения тартразина в дозе 750 мг/кг во второй группе (22,43%-19,11%) и 1500 мг/кг в третьей группе (38,66%-25,91%). В надпочечниках фактор нанесения дефекта во второй и третьей группах также оказывает большее, чем фактор введения тартразина в дозах 750 и 1500 мг/кг влияние на индекс функциональной активности корковых и мозговых эндокриноцитов. Максимальные значения силы влияния первого фактора зарегистрированы в мозговом веществе, где она была наивысшей на 3, 10 сутки (91,65%, 91,82% во второй группе и 83,05%, 85,37% в третьей группе), а второго фактора – в пучковой зоне, где сила влияния постепенно нарастала к 45 суткам (20,49%, 25,64%, 25,26%, 25,09%, 35,67% во второй группе и 36,28%, 39,94%, 38,62%, 41,09%, 60,39% в третьей группе).

Ключевые слова: щитовидная железа, околощитовидные железы, надпочечники, морфофункциональные показатели, двухфакторный дисперсионный анализ.

Morozov V.N.

**USE OF ANALYSIS OF VARIANCE IN ASSESSING THE INFLUENCE OF FACTORS OF
LONG-TERM ADMINISTRATION OF TARTRAZINE AND APPLICATION OF DEFECT
IN THE TIBIAE ON THE MORPHOMETRIC PARAMETERS OF THE RAT'S THYROID,
PARATHYROID AND ADRENAL GLANDS**

Scientific Advisor – full professor V.I. Luzin

Belgorod National Research University, Belgorod

The influence of the tartrazine administration factor and the defect application factor in the rat's tibia on the morpho-functional indicators of the thyroid, parathyroid and adrenal glands of white mature rats after two months of administration of tartrazine in doses of 750 and 1500 mg/kg body weight, as well as further injury to the bones (second and third groups, respectively) were assessed. The factor of long-term administration of tartrazine in doses of 750 and 1500 mg/kg significantly affects the nuclear-cytoplasmic ratio of follicular endocrinocytes of the thyroid gland from 3rd to 45th days of the experiment (the strength of the influence of the factor was in the range of 43,48%-24,78% in second group and 71,13%-37,62% in third group), and the defect application factor – in second group on 10th, 15th days (41,01%, 47,08%) and in third group on 10th day (37,05%). While the effects of these factors on the lumen-epithelial index is not statistically significant. In the parathyroid glands, the strength of the influence of the defect application factor

on the functional activity index of the chief cells is greater (68,14%-80,52% in second group and 51,46%-63,58% in third group) than the tartrazine administration factor at a dose of 750 mg/kg in second group (22,43%-19,11%) and 1500 mg/kg in third group (38,66%-25,91%). In the adrenal glands, in second and third groups the defect application factor also has a greater effect on the functional activity index of cortical and medullary endocrinocytes than the tartrazine administration factor in doses of 750 and 1500 mg/kg. The maximum values of the strength of influence of the first factor were observed in the adrenal medulla, where it was highest on 3rd and 10th days (91,65%, 91,82% in second group and 83,05%, 85,37% in third group), and the second factor – in the zona fasciculata, where the strength of influence gradually increased by 45th day (20,49%, 25,64%, 25,26%, 25,09%, 35,67% in second group and 36,28%, 39,94%, 38,62%, 41,09%, 60,39% in third group).

Key words: thyroid gland, parathyroid glands, adrenal glands, morpho-functional indicators, two-way ANOVA.

В пищевой промышленности для усиления естественного цвета продукта или для восстановления утраченного в процессе производства цвета широко используют пищевые красители. Тартразин, как представитель азокрасителей, обеспечивает стойкое окрашивание продукта в желтый или оранжевый цвет и входит в состав кондитерских изделий, газированных напитков, а также используется для окраски различных лекарственных форм – таблеток, драже, капсул и средств личной гигиены [12, 13]. Предельно допустимая суточная доза тартразина строго регламентирована и составляет 7,5 мг/кг массы тела [12]. Однако, при анализе литературы обнаруживаются данные о неблагоприятных эффектах данного красителя не только при ее увеличении, но и в таковых не превышающих ПДК. Описаны морфологические изменения гепатоцитов печени, эпителия канальцев нефронов, клеток сперматогенного эпителия извитых семенных канальцев яичек, повреждающее действие на молекулу ДНК клеток [8, 11]. По собственным данным, длительное воздействие тартразина вызывает изменение гистологического строения и морфометрических параметров щитовидной и околощитовидных желез [4, 5].

В настоящее время травматизм является серьезной медико-социальной проблемой, поскольку на определенный или неопределенный срок выводит человека из рамок трудового процесса, что вызывает изменение плановых производственных показателей [7]. Травма сопровождается не только местными изменениями, но, в зависимости от ее тяжести, и генерализованной реакцией организма, в которой ведущую роль играют эндокринные железы [10]. В литературе, изменения функционального состояния щитовидной, околощитовидных желез и надпочечников в ответ на травму достаточно подробно описаны [10]. Однако, полностью не освещена информация о морфо-функциональных изменениях в данных органах в условиях, когда моменту травмы предшествовало длительное поступление в организм пищевых добавок, в частности тартразина и не оценен вклад каждого фактора.

Цель работы

Оценка влияния фактора 60-ти дневного введения тартразина и фактора нанесения дефекта в большеберцовых костях на морфо-функциональные показатели щитовидной, околощитовидных желез и надпочечников крыс.

Материал и методы

В эксперименте участвовало 90 белых половозрелых крыс-самцов массой 200-210 г. (половозрелый возраст, репродуктивный период онтогенеза, 3-4 месяца). В первую группу включили животных, которым в течение 60-ти дней внутрижелудочно вводили 0,9% раствор хлорида натрия (контрольная группа), а вторую и третью – лабораторных крыс, в аналогичных условиях получавших раствор тартразина в дозах 750 и 1500 мг/кг массы тела соответственно. После окончания 60-ти суточного введения физиологического раствора или раствора тартразина животным моделировали перелом правой и левой большеберцовых костей путем нанесения дефекта в проксимальной трети их тела [3]. Сроки наблюдения после оперативного вмешательства составили 3, 10, 15, 24 и 45 сутки. Манипуляции и процедуры с участием лабораторных крыс осуществлялись в соответствии с положениями, установленными Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза [9]. Протокол исследования одобрен на заседании комиссии по биоэтике ГУ «Луганский государственный медицинский университет им. Святителя Луки» (25.03.2022 г., протокол №2). Животные подвергались эвтаназии путем ингаляции летальной дозы диэтилового эфира. Для исследования забирались щитовидная железа с околощитовидными, надпочечники, а также большеберцовые кости. Вышеуказанные эндокринные железы подвергались гистологической проводке согласно стандартному протоколу [2]. Полученные гистологические срезы окрашивали по следующим методикам: гематоксилин-эозин, по Ван Гизону и метиленовый синий. Для изучения срезов, их фотографирования, для измерений структурных образований использовали аппаратный комплекс, состоящий из персонального компьютера с программным обеспечением «Nis-Elements BR 4.60.00», микроскопа «Nikon Eclipse Ni» и цифровой камеры «Nikon DS-Fi3» (Nikon Corporation, Japan). На гистологических срезах центра щитовидной железы не менее чем в десяти областях измеряли внутренний диаметр фолликулов, высоту фолликулярных эндокриноцитов и вычисляли просвет-эпителиальный индекс (ПЭИ) как отношение этих двух показателей. В фолликулярном эндокриноците измеряли площадь ядра, цитоплазмы и высчитывали ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО). В околощитовидных железах подсчитывали количество ядер главных эндокриноцитов на единицу площади среза (Няд), средние диаметры их ядер (МДяд) и индекс функциональной активности (InFA) по формуле

$$InFA = \frac{N_{яд} \times MD_{яд}}{20}$$

В надпочечниках осуществляли подсчет количества ядер корковых эндокриноцитов в клубочковой, пучковой и сетчатой зонах и количество ядер мозговых эндокриноцитов, средние диаметры их ядер и индексы функциональной активности (ИФА) по вышеуказанной формуле [1]. После проведения замеров полученные числовые данные переносили в лицензионную компьютерную программу «Microsoft Office Excel 2017» (Microsoft, USA), где из них выстраивали вариационные ряды. С целью оценки влияния каждого фактора (длительное воздействие тартразина в разных дозах и нанесение дефекта в большеберцовых костях) на морфо-функциональные параметры использовали двухфакторный дисперсионный анализ без повторений. Учитывая то, что в предыдущих работах при проведении сравнения гипотез при помощи критериев Стьюдента и Манна-Уитни наиболее статистически значимо изменялись функциональные интегративные параметры щитовидной, околотитовидных желез и надпочечников, а именно ПЭИ, ЯЦО фолликулярных эндокриноцитов, ИФА главных эндокриноцитов, а также корковых и мозговых эндокриноцитов двухфакторному дисперсионному анализу были подвергнуты именно они. Для вышеуказанных показателей рассчитывалась сила влияния каждого фактора как произведение квадрата корреляционного отношения на 100%. Достоверными считали результаты, при которых $F_{факт.}$ было больше $F_{крит.}$ [6].

Результаты и обсуждение

Во второй и третьей группах фактор введения тартразина достоверно влиял на ЯЦО фолликулярных эндокриноцитов в центре долей щитовидной железы с 3 по 45 сутки (сила влияния фактора – 43,48%, 46,01%, 37,18%, 25,92%, 24,78% и 71,13%, 55,42%, 50,07%, 43,74%, 37,62% соответственно), а фактор нанесения дефекта – на 10 и 15 сутки во второй группе (сила влияния фактора – 41,01%, 47,08%) и на 10 сутки в третьей группе (37,05%). На ПЭИ щитовидной железы фактор длительного введения тартразина и фактор нанесения дефекта в большеберцовых костях статистически значимого влияния не оказывали.

В околотитовидных железах фактор введения тартразина достоверно влиял на ИФА главных эндокриноцитов с 3 по 15 сутки (сила влияния фактора – 22,43%, 16,57%, 19,11%) во второй группе и с 3 по 45 сутки (сила влияния фактора – 38,66%, 34,26%, 34,38%, 24,99%, 25,91%) в третьей группе. Фактор нанесения дефекта в большеберцовых костях оказывал статистически значимое влияние во все сроки наблюдения, а сила влияния фактора составила соответственно 68,14%, 74,18%, 68,66%, 80,99%, 80,52% и 51,46%, 53,96%, 51,73%, 63,51%, 63,58%.

В второй группе фактор введения тартразина и фактор нанесения дефекта в большеберцовых костях оказывали достоверное влияние на ИФА эпителиоцитов клубочковой зоны с 3 по 45 сутки (14,48%, 16,65%, 16,93%, 14,41%, 14,53% и 85,31%, 83,29%, 82,34%, 84,25%, 84,18% соответственно), эпителиоцитов пучковой зоны (20,49%, 25,64%, 25,26%, 25,09%, 35,67% и 78,60%, 72,37%, 72,65%, 71,47%, 58,19%), эпителиоцитов сетчатой зоны (11,67%, 11,11%, 13,63%, 8,17%, 7,70% и 88,04%, 88,29%, 85,95%, 91,13%, 88,98%) и хромаффиноцитов (7,01%, 7,09%, 6,10%, 5,13%, 5,80% и 91,65%, 91,82%, 92,64%, 92,98%, 91,26%). Фактор введения тартразина в третьей группе и фактор нанесения дефекта в большеберцовых костях достоверно влияли на ИФА эндокриноцитов клубочковой зоны во все сроки наблюдения (сила влияния – 35,58%, 31,87%, 36,81%, 34,26%, 43,55% и 63,78%, 67,90%, 63,09%, 64,31%, 55,62%), клеток пучковой зоны (36,28%, 39,94%, 38,62%, 41,09%, 60,39% и 62,83%, 58,33%, 59,25%, 55,71%, 37,46%), клеток сетчатой зоны (30,79%, 29,76%, 24,72%, 26,45%, 19,57% и 68,16%, 70,04%, 74,83%, 72,79%, 73,85%) и клеток мозгового вещества (14,97%, 13,12%, 17,05%, 16,52%, 20,29% и 83,05%, 85,37%, 81,39%, 81,22%, 73,78%).

Заключение и выводы

1. В щитовидной железе фактор длительного введения тартразина достоверно влияет на ЯЦО – морфометрический показатель фолликулярного эндокриноцита как клетки во все сроки наблюдения, а его влияние на ПЭИ как морфометрического показателя фолликула статистически не значимо. Фактор нанесения дефекта в большеберцовых костях достоверно влияет только на ЯЦО фолликулярных эндокриноцитов в третьей группе на 10 и 15 сутки.
2. В околощитовидных железах сила влияния фактора нанесения дефекта на ИФА главных эндокриноцитов больше, чем фактора введения тартразина. При этом, во второй группе зарегистрированы более высокие значения силы влияния первого фактора, а в третьей группе – второго.
3. В надпочечниках фактор нанесения дефекта также оказывал большее, чем фактор введения тартразина влияние на ИФА эндокриноцитов. Максимальные значения силы влияния первого фактора установлены в мозговом веществе, где она была наивысшей на 3 и 10 сутки, а второго фактора – в пучковой зоне, где сила влияния постепенно нарастала к 45 суткам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волков В.П. Новый подход к оценке морфофункционального состояния щитовидной железы // *Universum: Медицина и фармакология.* – 2014. – Т. 12 (13). – URL: <http://7universum.com/ru/med/archive/item/1798> (дата обращения: 01.10.2023).

2. Коржевский Д.Э., Гиляров А.В. Основы гистологической техники. Санкт-Петербург: СпецЛит, 2010. 95 с.
3. Лузин В.И., Ивченко Д.В., Панкратьев А.А. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных. Украинский медицинский альманах. – 2005. – Т. 8, № 2. – С. 162.
4. Морозов В.Н., Лузин В.И. Влияние 60-ти суточного введения тартразина на гистологическое строение и морфометрические параметры щитовидной железы крыс // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2023. – № 5. – Публикация 3-4. – URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2023-5/3-4.pdf> (дата обращения: 25.09.2023).
5. Морозов В.Н., Лузин В.И. Морфометрические показатели околощитовидных желез крыс после 60-ти дневного воздействия бензоата натрия или тартразина и смоделированной травмы кости // Медицинская наука и образование Урала. – 2023. – Т. 24, № 1. – С. 94-99.
6. Цорин И.Б. Применение дисперсионного анализа в экспериментальной фармакологии. Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2023. – № 1. – С. 3-23.
7. Щетинин С.А. Анализ частоты и последствий травматизма в России. Современные проблемы науки и образования. – 2015. – Т. 2 (1). – URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=17871> (дата обращения: 08.01.2023).
8. Abo-El-Sooud K., Hashem M.M., Badr Y.A., Eleiwa M.M.E., Gab-Allaha A.Q., Abd-Elhakim Y.M., Bahy-El-Dien A. Assessment of hepato-renal damage and genotoxicity induced by long-term exposure to five permitted food additives in rats // Environ Sci Pollut Res Int. – 2018. – Vol. 25, № 26. – P. 26341-26350.
9. Directive 2010/63/ EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes // Official Journal of the European Union. – 2010. – Vol. 53, is. L276. – P. 33-79.
10. Gibson S.C., Hartman D.A., Schenck J.M. The Endocrine Response to Critical Illness: Update and Implications for Emergency Medicine. Emerg Med Clin N Am. – 2005. – Vol. 23, № 3. – P. 909-929.
11. Mindang E.L.N., Awounfack C.F., Ndinteh D.T., Krause R.W.M., Njamen D. Effects of tartrazine on some sexual maturation parameters in immature female Wistar rats // Int. J. Environ. Res. Public Health. – 2022. – Vol. 19, № 16. – Art. 10410. – URL: <https://www.mdpi.com/1660-4601/19/16/10410> (date of the application: 16.10.2023).
12. Rovina K.A, Siddiquee S., Shaarani S.M. Review of Extraction and Analytical Methods for the Determination of Tartrazine (E 102) in Foodstuffs // Crit Rev Anal Chem. – 2017. – Vol. 47 (4). – P. 309-324.
13. Sambu S., Hemaram U., Murugan R., Alsofi A.A. Toxicological and teratogenic effect of various food additives: an updated review // Biomed. Res. Int. – 2022. – Vol. 2022. – Art. 6829409. – URL: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2022/6829409/> (date of the application: 16.10.2023).

Сведения об авторах статьи:

Морозов Виталий Николаевич – к.м.н., доцент ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, г. Белгород, e-mail: vitaliyumorozov85@mail.ru