

УДК 616.1/4-091.8-02:616-099]-092.9
DOI 10.11603/bmbr.2706-6290.2019.1.10514

О. М. Копаниця, О. П. Мялюк

КЗВО «Рівненська медична академія» Рівненської обласної ради

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ВНУТРІШНІХ ОРГАНІВ БІЛИХ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЗАСТОСУВАННІ РІЗНИХ ДОЗ КАРАГІНАНУ

Структурно-функціональні зміни внутрішніх органів білих щурів при експериментальному застосуванні різних доз карагінану

О. М. Копаниця, О. П. Мялюк

КЗВО «Рівненська медична академія» Рівненської обласної ради

Резюме. В основі механізму впливу карагінану на організм варто звернути увагу на розвиток оксидативного стресу й запалення як пускових механізмів ушкодження не тільки кишки, а й основних поліорганних порушень.

Мета дослідження – вивчити структурну організацію стінки тонкої кишки, міокарда і печінки експериментальних тварин при застосуванні різних концентрацій к-карагінану.

Матеріали і методи. Дослідження проведено на 36 статевозрілих білих нелінійних щурах-самцях. Тваринам експериментальних груп забезпечили вільний доступ до 0,5 і 1,0 % розчину карагінану в питній воді протягом 1 місяця.

Результати. Результати гістологічного дослідження стінки тонкої кишки експериментальних тварин, які отримували 0,5 % розчин карагінану, продемонстрували картину помірно виражених дистрофічних змін епітелію слизової оболонки та ознаки запального процесу (лімфоцитарно-макрофагальна інтоксикація, деформація ворсинок тонкої кишки, відсутність базальної мембрани на деяких ділянках). На світлооптичному рівні мікроскопії патологічні зміни у печінці були мінімальними; будова серцевого м'яза у більшості щурів не відрізнялася від інтактних тварин. При мікроскопічному дослідженні внутрішніх органів білих щурів, які отримували 1 % розчин карагінану, в епітелії слизової оболонки тонкої кишки відмічали ознаки дистрофії: вакуолізацію епітеліоцитів, зміну тинкторіальних властивостей їх цитоплазми, місцями відсутність вільної облямівки. У печінці балкова структура органа зберігалася. Спостерігали помірно виражений стромальний набряк. Подекуди мали місце помірно виражені альтеративні зміни гепатоцитів, що проявлялися розвитком дрібнокраплинної жирової дистрофії. Зміни серцевого м'яза в експериментальних тварин були виражені помірно. В деяких полях зору поперечна посмугованість кардіоміоцитів визначалася нечітко. Простежували помірно виражений набряк, місцями повнокров'я судин та наявність поодиноких еритро-

©О. М. Копаниця, О. П. Мялюк, 2019

Structural-functional changes of internal organs of the white rats during influence of different doses of carrageenan

O. M. Kopanytsia, O. P. Mialiuk

Rivne Medical Academy

e-mail: kopanytsya651@ukr.net

Summary. The mechanism of the impact of carrageenan on the body include the development of oxidative stress and inflammation as triggers damage not only in the intestine, but in the main organs too.

The aim of the study – to learn the structural organization of the wall of the small intestine, myocardium, and liver of experimental animals using different concentrations of k-carrageenan.

Materials and Methods. Experimental studies were conducted on 36 nonlinear white rats. The experimental animals had free access to 0.5 % and 1.0 % carrageenan solution in drinking water for 1 month.

Results. Histological examination of the wall of the small intestine of experimental animals receiving 0.5% solution of carrageenan, showed a pattern of moderately pronounced dystrophic changes in the epithelium of the mucous membrane and signs of the inflammatory process (lymphocyte-macrophage intoxication, deformation of the villi of the small intestine, absence of basal membrane in some areas). At the optical microscopy pathological changes in the liver were minimal; the structure of the heart muscle in most rodents did not differ from intact animals. In the microscopic examination of the internal organs of the white rats receiving 1 % solution of carrageenan, in the epithelium of the mucous membrane of the small intestine there were signs of dystrophy: vacuolation of epitheliocytes, change in the tinctorial properties of their cytoplasm, sometimes lack of ciliated. In the liver, the beam structure of the organ was preserved. Moderately stromal edema was observed. In some places there were moderately pronounced alterative changes in hepatocytes, manifested by the development of small-sized fatty dystrophy. Changes in cardiac muscle in experimental animals were moderate. In some fields of view, the transverse banding of cardiomyocytes was not clearly defined. Moderate swelling, vascular full-blooded areas, and the presence of single red blood cells in perivascular areas were observed. There were also slight lymphocyte accumulations in some areas.

цитів у перивазальних ділянках. Також подекуди були незначні скупчення лімфоцитів

Висновки. Морфологічні дослідження показали, що введення щурам 0,5 % розчину карагінану зумовлює запальні зміни у тонкій кишці, проте не призводить до значних структурних змін у печінці й серці. Ушкодження епітеліоцитів та їх дистрофія, дезорганізація сполучнотканинних елементів підслизового шару тонкої кишки при застосуванні 1 % карагінану супроводжується морфологічними змінами у печінці й серці.

Ключові слова: к-карагінан; тонка кишка; печінка; серце; морфологія.

ВСТУП

У світовій практиці в якості харчових добавок дозволено використовувати близько 500 різних речовин, нерахуючи величезної кількості різного роду ароматизаторів і деяких різновидів комбінованих добавок. У США кількість харчових добавок (ХД) перевищує 1500, в країнах ЄС досягає 1200, у Росії – 415, в Німеччині – 350 [1]. До початку 90-х років ХХ ст. споживання харчових добавок в Україні було обмеженим, порівняно із зарубіжними країнами Європи та США [2], до 1994 р. було дозволено лише 194 ХД, а вже у 2000 р., згідно з Постановою Кабінету Міністрів, – 221. Крім того, в країнах Європейського Союзу дозволено використовувати в харчовому виробництві більш як 400 ароматизаторів та смакових речовин.

З харчовою метою і у медичній практиці також важливе місце посідає харчова добавка, яку виділяють водною екстракцією з морських водоростей – карагінан [3]. Ця ХД (Е407) об'єднує сімейство полісахаридів (відоме також під назвою ірландський мох), що містяться в червоних морських водоростях *Chondrus Crispis*, *Eucheuma Species*, *Gigartina Species* й ін. За хімічною природою він близький до агароїдів і являє собою нерозгалужені сульфатовані гетероглікани, молекули яких побудовані із залишків похідних D-галактопіранози зі строгим чергуванням α - (1,3)- і β - (1,4)-зв'язків між ними, тобто з повторюваних дисахаридних ланок, що включають залишки β -D-галактопіранози і 3,6-ангідро- α -D-галактопіранози. Залежно від особливостей будови дисахаридних повторюваних ланок розрізняють три основних типи караганів, для позначення яких використовують літери грецького алфавіту [4].

Завдяки своїм фізико-хімічним властивостям карагінан має досить широке застосування. Близько 70 %, виробленого його в світі, використовують у харчовій промисловості: при виробництві молочних (шоколадне молоко, щербети, домашній сир, сирні пасти, дитяче харчування), м'ясних і рибних продуктів (консерви, оболонки ковбас, желеїні покриття), приправ, безалкогольних напоїв, хлібобу-

Conclusions. Morphological studies have shown that administration of 0.5 % carrageenan to rats causes inflammatory changes in the small intestine, but does not lead to significant structural changes in the liver and heart. Damage to epitheliocytes and their dystrophy, disorganization of connective tissue elements of the submucosal layer of the small intestine with the use of 1 % carrageenan is accompanied by morphological changes in the liver and heart.

Key words: k-carrageenan; small intestine; liver; heart; morphology.

лочних (хлібне тісто, фруктові кекси, цукрові глазурі) і кондитерських виробів [5].

Результати попередніх досліджень вказують на розвиток оксидативного стресу з вираженою ендogenous інтоксикацією у щурів, яким моделювали карагінановий хронічний ентероколіт [6–8].

В основі механізму впливу карагінану на організм варто звернути увагу на розвиток оксидативного стресу й запалення як пускових механізмів ушкодження не тільки кишки, а й основних поліорганних порушень у серці, легенях і печінці.

Метою дослідження було вивчити структурну організацію стінки тонкої кишки, міокарда і печінки експериментальних тварин при застосуванні різних концентрацій к-карагінану.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проведено на 36 білих нелінійних щурах-самцях, яких утримували на стандартному раціоні віварію Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського. Під час роботи дотримувалися принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Експериментальних щурів поділили на 3 групи: першу – контрольну (інтактні тварини), тварини другої групи були забезпечені вільним доступом до 0,5 % розчину карагінану в питній воді протягом 1 місяця, щурів третьої групи забезпечили вільним доступом до 1,0 % розчину к-карагінану в питній воді протягом 1 місяця [9, 10].

Фіксували зразки тканин тонкої кишки, печінки і серця протягом однієї години 1,5 % розчином глютарового альдегіду в 0,2 М какодилатному буфері (рН 7,2). Потім зразки промивали какодилатним буфером, повторно фіксували 2 % розчином чотириокису осмію в тому ж буфері протягом години. Щоб відмити надалі дослідний матеріал від фіксаторів, їх обезводнювали в зростальних концентраціях етилового спирту. Крім цього, ще обезводнювали в 2-х змінах окису пропілену і поміщали в епоксидну

смоли епон-812. Для отримання тонких зрізів використовували ультрамікромом УМТП-6 (алмазний ніж), протягом 15 хв контрастували 2 % розчином уранілацетату і додатково цитратом свинцю за Рейнольдсом [11]. Зрізи переглядали і фотографували за допомогою електронного трансмісійного мікроскопа ПЕМ-100.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Гістологічне дослідження стінки тонкої кишки експериментальних тварин першої експериментальної групи, які отримували 0,5 % розчин карагану, продемонструвало картину помірно виражених дистрофічних змін епітелію слизової оболонки та ознаки запального процесу. Місцями, частіше на верхівках ворсинок, спостерігали відсутність вільної облямівки та інтенсивну базофілію цитоплазми епітеліоцитів, серед них візуалізувалися збільшені в розмірах оптично порожні клітини, відмічали нечіткість клітинних контурів. Мала місце вогнищева поліморфноклітинна інфільтрація слизової оболонки та підслизового шару лімфоцитами, макрофагами, гістіоцитами, еозинофілами, нейтрофілами (рис. 1).

На світлооптичному рівні мікроскопії патологічні зміни у печінці були мінімальними. Балкова архітектоніка органа не порушувалася. Кровонаповнення центральних вен було помірним, часто їх просвіт був порожнім. Синусоїди візуалізувалися чітко, в їх просвітах можна було бачити поодинокі макрофаги. У більшості полів зору структура гепатоцитів була незмінною, при ретельному дослідженні виявлялися ознаки пілоподібної жирової дистрофії в централобулярних гепатоцитах (рис. 2). Проявом активації регенераторних процесів була поява у перипортальних ділянках печінкових часточок гепатоцитів із двома ядрами. Відмічали незначний стромальний набряк. Портальні тракти не розширені, їх судини звичайного кровонаповнення.

Будова серцевого м'яза у більшості гризунів другої експериментальної групи не відрізнялася від інтактних тварин. В окремих випадках спостерігали помірно виражений стромальний набряк, поодинокі дрібні лімфоцитарні інфільтрати, вогнищеві дистрофічні зміни кардіоміоцитів (рис. 3).

При мікроскопічному дослідженні внутрішніх органів білих щурів третьої експериментальної групи, які отримували 1 % розчин карагану, в епітелії слизової оболонки тонкої кишки відзначалися ознаки дистрофії: вакуолізація епітеліоцитів, зміна тинкторіальних властивостей їх цитоплазми, місцями відсутність вільної облямівки. Такі зміни мали вогнищевий характер. Залозисті структури зазнавали атрофії. Домінуючим елементом в кар-

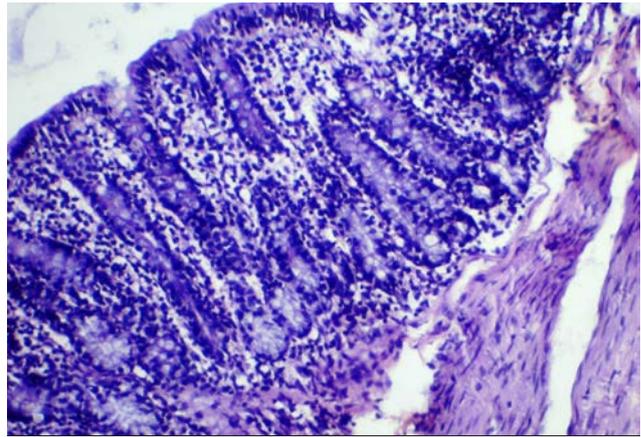


Рис. 1. Слизова оболонка тонкої кишки білого щура другої групи. Запальна інфільтрація слизової оболонки, дистрофічні зміни і вогнищева десквамація епітелію. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Ок. 10, об. 10.

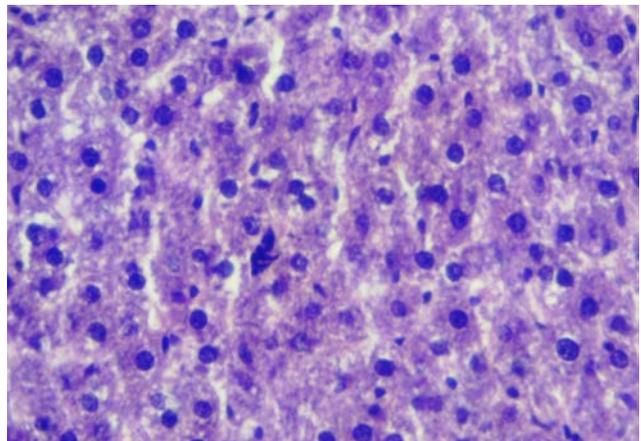


Рис. 2. Печінка білого щура другої групи. Дистрофічні зміни гепатоцитів. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Ок. 10, об. 20.

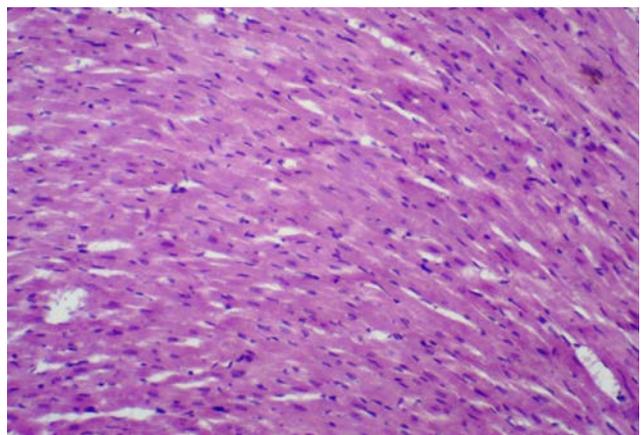


Рис. 3. Міокард білого щура другої групи. Помірно виражений стромальний набряк, вогнищеві дистрофічні зміни кардіоміоцитів. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Ок. 10, об. 20.

тині патологічних змін були прояви хронічного ентериту – інфільтрація слизової оболонки лімфоцитами, макрофагами, гістіоцитами, нейтрофілами, еозинофілами (рис. 4).

Запальні інфільтрати, переважно перивазальної локалізації, візуалізувалися і у підслизовому шарі, де також відзначався набряк. Спостерігали помірні явища фіброзу (рис. 5).

У печінці балкова структура органа зберігалася. Спостерігали помірно виражений стромальний набряк. Подекуди мали місце помірно виражені альтеративні зміни гепатоцитів, що проявлялися розвитком дрібнокраплинної жирової дистрофії – у

цитоплазмі клітин візуалізувалися оптично порожні вclusions (рис. 6). Зазначених змін зазнавали переважно гепатоцити, розміщені в центрі часточок. У перипортальних зонах спостерігали наявність двоядерних гепатоцитів.

Зміни серцевого м'яза в експериментальних тварин були виражені помірно. В деяких полях зору поперечну посмугованість кардіоміоцитів визначали нечітко. Спостерігали помірно виражений набряк, місцями повнокров'я судин та наявність поодиноких еритроцитів у перивазальних ділянках. Також подекуди були незначні скупчення лімфоцитів (рис. 7).

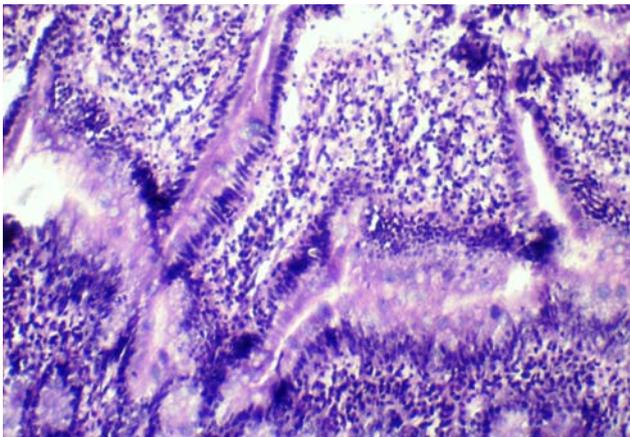


Рис. 4. Слизова оболонка тонкої кишки білого щура третьої групи. Інтенсивна запальна інфільтрація. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Ок. 10, об. 10.

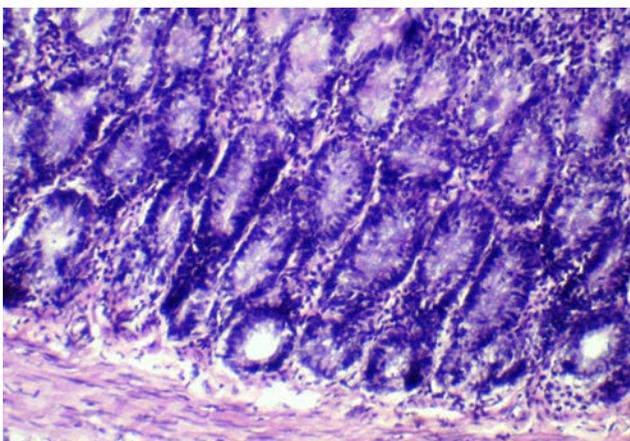


Рис. 5. Слизова оболонка тонкої кишки білого щура третьої експериментальної групи. Дистрофічні зміни епітелію, запальна інфільтрація, набряк підслизового шару. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Ок. 10, об. 10

ВИСНОВКИ

Морфологічні дослідження показали, що введення щурам 0,5 % розчину карагінану зумовлює

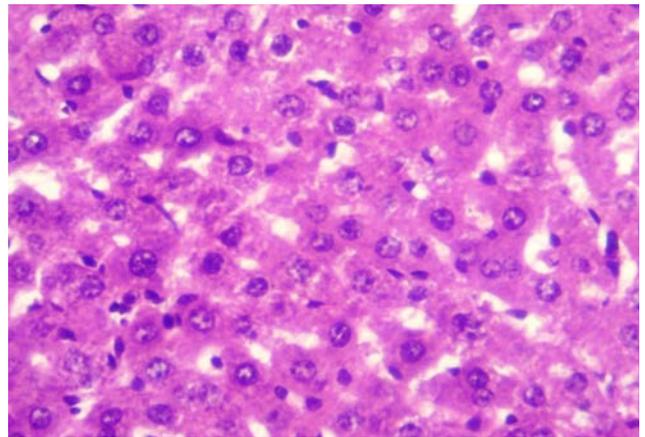


Рис. 6. Печінка білого щура третьої групи. Дистрофічні зміни гепатоцитів. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Ок. 10, об. 20.

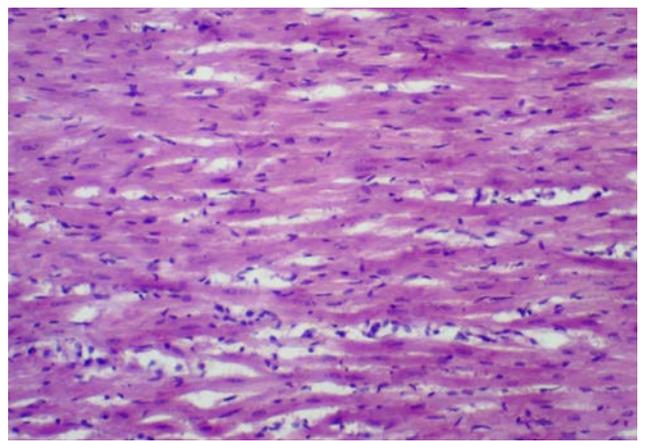


Рис. 7. Міокард білого щура третьої групи. Помірно виражений стромальний набряк, вогнищеві скупчення лімфоцитів. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Ок. 10, об. 20.

запальні зміни у тонкій кишці (лімфоцитарно-макрофагальна інтоксикація, деформація ворсинок тонкої кишки, відсутність базальної мембрани на деяких

ділянках), проте не призводить до значних структурних змін у печінці й серці. Ушкодження епітеліоцитів та їх дистрофія, дезорганізація сполучнотка-

нинних елементів підслизового шару тонкої кишки при застосуванні 1 % карагану супроводжується морфологічними змінами у печінці й серці.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Івахно О. П. Проблеми використання харчових добавок у продуктах дитячого харчування / О. П. Івахно, І. П. Козярін // *Environment & Health*. – 2019. – No 1. – P. 29–32.
2. Свирида В. В. Харчові добавки: визначення, класифікація, проблеми використання / В. В. Свирида, В. О. Малєєв, В. М. Безпальченко // *Наково-практичні розробки молодих учених на сучасному етапі розвитку хімічних технологій: матеріали II Всеукр. наук.-практ. конф. молодих учених і студентів*. – Херсон: ХНТУ, 2015. – С. 62–63.
3. Comparison of the structures of hybrid κ - β -carrageenans extracted from *Furcellaria lumbri-calis* and *Tichocarpus crinitus* / G. Correc, A. Varabanova, R. Tuvikene [et al.] // *Carbohydr. Polym.* – 2012. – Vol. 88. – P. 31–36.
4. Пищевая химия / [А. П. Нечаев, С. Е. Траубенберг, А. А. Кочеткова и др.]. – Спб.: ГИОРД, 2003. – 640 с.
5. Османьян Р. Г. Перспективы использования карагинанов в кондитерском производстве (для производства жележных конфет с функциональными свойствами) / Р. Г. Османьян // *Пищевая и перерабатывающая промышленность. Реферативный журнал*. – 2008. – № 2. – С. 432.
6. The indices of endogenous intoxication in rats with carrageenan solution consumption // I. Krynytska,

- M. Marushchak, O. Svan [et al.] // *Georgian Medical News*. – 2018. – Vol. 279. – P. 196–200.
7. Krynytska I. The indices of nitric oxide system in rats with carrageenan-induced enterocolitis combined with diabetes mellitus / I. Krynytska, M. Marushchak // *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases*. – 2018. – Vol. 25, No. 3. – P. 283–288.
8. Markers of endogenous intoxication in rats with diabetes mellitus combined with carrageenan-induced enterocolitis / I. Krynytska, M. Marushchak, I. Birchenko [et al.] // *Romanian Journal of Diabetes Nutrition & Metabolic Diseases*. – 2018. – Vol. 25, No. 4. – P. 399–407.
9. Moyana T. N. Carrageenan-induced intestinal injury in the rat – a model for inflammatory bowel disease / T. N. Moyana, J. M. Lalonde // *Ann. Clin. Lab. Sci.* – 1990. – Vol. 20, No. 6. – P. 420–426.
10. Пат. 97322. Україна, МПК: G09B 23/28. Спосіб моделювання хронічного гастроентероколіту / Г. І. Губіна-Вакулик, Н. Г. Колоусова, Т. О. Іваненко, Т. В. Горбач, В. О. Коробчанський; власник Харківський Нац. Мед. ун-т. – № а201014510; заявл. 06.12.2010; опубл. 25.01.2012, Бюл. № 2. – 4 с.
11. Растровая электронная микроскопия и рентгеновский анализ / [Гоулдстейн Дж., Ньюбери Д., Эчлин П. и др.]. М.: Мир, 1984. Кн. 2. С. 162–317.

REFERENCES

1. Ivakhno AP, Koziarin IP. The problems of the use of food additives in the infant's food stuffs. *Environment & Health*. 2019;1: 29-32.
2. Svirida VV, Maleev VO, Bezpalchenko VM. Nutritional supplements: definition, classification, problems of use. Scientific and practical development of young scientists at the present stage of development of chemical technologies. Kherson: KhNTU. 2015. Ukrainian.
3. Correc G, Varabanova A, Tuvikene R, Truus K, Yermak I, Helbert W. Comparison of the structures of hybrid κ - β -carrageenans extracted from *Furcellaria lumbri-calis* and *Tichocarpus crinitus*. *Carbohydrate Polymers*. 2012;17;88(1): 31-6.
4. Nechaev AP, Traubenberg SE, Kochetkova AA. Food Chemistry. [Пищевая химия] St. Petersburg: GIORД. 2003;640. Russian.
5. Osmanyang RG. Prospects for the use of carrageenans in the confectionery industry (for the production of jelly sweets with functional properties). *Pishchevaya i pererab promysh. Referat zhurn*. 2008;2: 432. Russian.
6. Krynytska I, Marushchak M, Svan O, Akimova V, Mazur L, Habor H. The indices of endogenous intoxication

- in rats with carrageenan solution consumption. *Georgian Medical News*. 2018;279: 196-200.
7. Krynytska I, Marushchak M. The indices of nitric oxide system in rats with carrageenan-induced enterocolitis combined with diabetes mellitus. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases*. 2018;25(3): 283-8.
8. Krynytska I, Marushchak M, Birchenko I, Klishch I. Markers of endogenous intoxication in rats with diabetes mellitus combined with carrageenan-induced enterocolitis. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition & Metabolic Diseases*. 2018;25(4): 399-407.
9. Moyana TN, Lalonde JM. Carrageenan-induced intestinal injury in the rat--a model for inflammatory bowel disease. *Annals of Clinical & Laboratory Science*. 1990;20(6): 420-6.
10. Gubin-Vakulik GI, Kolousova NG, Ivanenko TO, Gorbach TV, Korobchansky VO. The method of modeling of chronic gastroenterocolitis. *Pat. of Ukraine*. 2012;a201014510. Ukrainian.
11. Goldstein J, Newbury D, Echlin P. Raster electron microscopy and X-ray analysis. [Растровая электронная микроскопия и рентгеновский анализ] Moscow: Mir; 1984. Russian.

Отримано 02.09.19