

## Субмікроскопічні зміни структурних компонентів селезінки при дії глутамату натрію

Гаранко Т.В.<sup>1\*</sup>, Матешук-Вацеба Л.Р.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ДВНЗ “Ужгородський національний університет”, Україна

<sup>2</sup>Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна

\*E-mail: garankotv@gmail.com

### Ключові слова:

- селезінка
- експеримент
- глутамат натрію
- лімфоцити

### Анотація

Проаналізовано результати експериментального дослідження, яке проводилося на білих щурах самцях та самках репродуктивного віку, з метою виявлення субмікроскопічних змін структурних компонентів селезінки за умови дії глутамату натрію в динаміці. Впродовж двох, чотирьох, шести та восьми тижнів тварини щоденно отримували разом з їжею глутамат натрію в дозі 0,07 г/кг маси тіла. Субмікроскопічні дослідження органа проведені за допомогою електронного трансмісійного мікроскопа TEM-100. Фотодокументували досліджуваний матеріал за допомогою цифрової камери SONY-H9. Перші порушення структурних компонентів селезінки спостерігаються вже через два тижні, а саме розширення міжклітинних просторів як в білій, так і в червоній пульпі селезінки, які містять вакуолоподібні структури, зростання кількості плазмочитів, цитоплазма яких заповнена розширеними канальцями ГЕС. В динаміці зі збільшенням тривалості прийому зміни поглиблюються, досягаючи максимуму через 8 тижнів експерименту. Методом електронної мікроскопії виявлено, що ознаки пристосувально-компенсаторних процесів до кінця експерименту приводять до втрати регенеративної функції.

## Вступ

В зв'язку зі зростання поширеності на ринку продуктів з харчовими добавками, нас зацікавило чи впливають вони на структуру органів імунної системи, зокрема на селезінку. Це вторинний орган лімфоїдної (імунної) системи, де відбувається антигензалежна проліферація та диференціація Т- і В-лімфоцитів, які надходять із судинного русла [7]. Орган здійснює імунний контроль крові, яка протікає від аорти до системи ворітної вени печінки. Окрім того в селезінці знищуються "відпрацьовані" клітини крові, антигени та інші чужорідні сполуки [5]. Не дивно, що цей орган викликає зацікавленість у морфологів вже десятки років. В літературі описані зміни селезінки при дії наночастинок діоксиду кремнію та ацетату свинцю, епіхлоргідрину, біоактивних речовин, медичних препаратів, радіаційного впливу [7, 8] та ін.

Однією з найбільш поширених харчових добавок як в Україні, так і у всьому світі є глутамат натрію [6, 9]. Має властивості підсилювача смаку, завдяки чому збільшує об'єм спожитої їжі, що призводить до висококалорійного харчування і є препаратом вибору для відтворення моделі експериментального ожиріння на тваринах [2]. Морфологи досліджують дію глутамату натрію на яєчники [4], маткові труби [3], яєчка [1], мозок [6] та ін. В літературі є деякі дані про дію глутамату натрію на

селезінку, проте немає інформації про його вплив в динаміці, про субмікроскопічні зміни клітинного складу органа.

**Мета дослідження:** вивчити електронно-мікроскопічні зміни в паренхімі селезінки щурів при дії глутамату натрію в динаміці.

## Матеріали та методи

Експериментальне дослідження проведено на 66 білих щурах самцях і самках репродуктивного віку (2,5–6,5-місячних) масою 120–250 г.

Електронно-мікроскопічному будову селезінки білих щурів за умов фізіологічної норми вивчали на 10 інтактних тваринах. Експериментальних тварин поділено на 4 групи, в кожній з яких по 10 тварин: перша група – тварини, які впродовж двох тижнів отримували висококалорійну дієту (ВКД); друга група – впродовж чотирьох; третя група – впродовж шести; четверта група – впродовж восьми тижнів отримували ВКД. В кожній групі було 5 щурів-самців та 5 щурів-самок. ВКД отримували, додаючи в їжу глутамат натрію в дозі 0,07 г/кг маси тіла щура. Контрольну групу склали 16 білих щурів (8 щурів-самців та 8 щурів-самок), які замість ВКД отримували стандартний харчовий раціон віварію.

Дослідження проводили згідно положень "Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях" (Страсбург, 1986), відповідно Директивам Ради Європи 86/609/ЕЕС (1986), Закону України #3447-IV "Про захист тварин від жорстокого поводження загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001). Перед забором матеріалу тварин знечулювали наркозом з диетилловим ефіром. Фіксацію шматочків селезінки проводили 1,5 % розчином чотириоксиду осмію в 0,2 М розчині какодилату натрію при рН 7,2 протягом 2–2,5 годин на холоді. Зрізи виготовляли на ультрамікромомі УМТП-6М алмазним ножом (DIATOM) та проводили подвійне контрастування за Рейнольдсом та уранілацетатом. Субмікроскопічні дослідження органа проведені за допомогою електронного трансмісійного мікроскопа TEM-100. Фотодокументували досліджуваний матеріал за допомогою цифрової камери SONY-H9.

## Результати

Електронно-мікроскопічна будова селезінки білих щурів самців та самок репродуктивного віку інтактною та контрольною груп відповідає видовій нормі. Зовні орган оточений волокнистою оболонкою, від якої всередину відходять селезінкові перекладки. Біла пульпа утворена лімфоцитами, плазмоцитами, макрофагами, дендритними та інтердигітуючими клітинами. Червона пульпа утворена скопиченням формених елементів крові, які знаходяться в оточенні ретикулярних клітин або в синусах селезінки. В гермінативному центрі лімфатичних вузликів зосереджені в основному В-лімфоцити, а в периартеріальній зоні Т-лімфоцити. Малі лімфоцити мають невелике округле ядро, яке оточене тоненькою ділянкою цитоплазми. Середні лімфоцити мають менше ядерно-цитоплазматичне співвідношення ніж малі лімфоцити. Великі лімфоцити містять ядро з переважанням еухроматину. Ретикулярні клітини мають видовжені ядра з чіткими контурами каріолеми. Їх плазмолема утворює відростки, якими вони утворюють клітинні контакти, формують селезінкові тяжі. Плазмоцити та макрофаги мають характерну будову. Цитоплазма макрофагів помірна завантажена частинами ядер інших клітин та залишками формених елементів крові.

Через два тижні експерименту дещо розширені міжклітинні простори як в білій, так і в червоній пульпі селезінки, містять вакуолоподібні структури, що може бути пояснено набряком паренхіми органа. Зросла кількість плазмоцитів, їх цитоплазма заповнена розширеними каналцями гранулярної ендоплазматичної сітки.

Через чотири тижні експерименту при електронно-мікроскопічному вивченні будови селезінки білих щурів самців та самок репродуктивного віку, виявлено збільшення кількості в паренхімі органа активних макрофагів. Їх цитоплазма завантажена уламками ядер інших клітин, частинами "неперетравлених" формених елементів крові, містить численні фагосоми. Зросла частка ретикулярних клітин та волокон сполучної тканини як в селезінкових трабекулах, так і в пульпарних тяжках.

Через шість тижнів експерименту з'являються ознаки пристосувально-компенсаторних процесів в органі. Зросла кількість лімфоцитів з ознаками апоптозу на різних етапах (каріопікноз, каріорексис,

каріолізис), кількість клітин з ознаками мітозу зменшилася. В зародковому центрі переважно розташовані малі та середні лімфоцити та лімфобласти, ядра останніх містять грудки конденсованого хроматину на внутрішній поверхні каріолем, ядерце чітко не візуалізується. В навколоартеріальній зоні переважають малі та середні лімфоцити, є ознаки набряку. В мантійній зоні зосереджені малі та середні лімфоцити, форма ядер овальна, каріолема не рівна, утворює випинання. Цитоплазма просвітлена, містить малу кількість дещо змінених органел. В крайовій зоні крім лімфоцитів є велика кількість активних макрофагів, цитоплазма містить осміофільні (жирові) включення, залишки фагоцитованих клітин. Червона пульпа повнокровна, містить ділянки скопичення деформованих формених елементів крові, полісегментоядерних нейтрофілів та мегакаріоцитів. Синусоїдні гемокапіляри розширені, в їх стінці великі проміжки для проходження клітин.

Через вісім тижнів дослідження всі зміни подібні до попереднього терміну експерименту, проте ознаки пристосувально-компенсаторних процесів більше зміщені до втрати регенеративної функції. Як в білій, так і в червоній пульпі селезінки білих щурів самців та самок, виявлено значне зростання кількості плазмоцитів та активних макрофагів. Ядра плазмоцитів містять переважно еухроматин, конденсований гетерохроматин розташований біля каріолеми. Цитоплазма в основному заповнена широкими каналцями ГЕС та цистернами комплексу Гольджі. Рибосом мало, мітохондрії з пошкодженими кристами. Макрофаги заповнені уламками клітин, осміофільними (жировими) включеннями, фагоцитованими частинами еритроцитів. Нерідке явище гибелі макрофага, вцент заповненого включеннями. Ретикулярні волокна в складі тяжів Більрота набрякші, потовщені. Еритроцити та тромбоцити заповнюють не лише проствіт пазух селезінки, але й скопичуються в пульпарних тяжах. Лімфоцити в складі білої пульпи мають поліморфні ядра, цитоплазма просвітлена, майже не містить органел, велика частина клітин на різних стадіях апоптозу.

## Висновки

У результаті щоденного додавання глутамату натрію до харчового раціону білих щурів самців та самок, перші порушення структурних компонентів селезінки спостерігаються вже через два тижні, а саме розширення міжклітинних просторів як в білій, так і в червоній пульпі селезінки, які містять вакуолоподібні структури, зростання кількості плазмоцитів, цитоплазма яких заповнена розширеними каналцями ГЕС. В динаміці зі збільшенням тривалості прийому зміни поглиблюються, досягаючи максимуму через 8 тижнів експерименту. Методом електронної мікроскопії виявлено, що ознаки пристосувально-компенсаторних процесів до кінця експерименту приводять до втрати регенеративної функції.

## Література

- [1] Alalwani AD. Monosodium glutamate induced testicular lesions in rats (histological study). Middle East Fertil Soc J. 2014; 19: 274-80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mefs.2013.09.003>
- [2] Bautista RJH, Mahmoud AM, Kö nigsberg M, Guerrero NELD. Obesity: Pathophysiology, monosodium glutamate-induced model and anti-obesity medicinal plants. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2019; 111: 503-16. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.108> [PMid:30597304]
- [3] Eweka AO, Eweka A, Om' iniabohs FAE. Histological Studies of the Effects of Monosodium Glutamate of the Fallopian Tubes of Adult Female Wistar Rats. North American Journal of Medical Sciences. 2010; 2 (3): 146-9.
- [4] Eweka AO, Om' iniabohs FAE. Histological Studies of the Effects of Monosodium Glutamate on the Ovaries of Adult Wistar Rats. Annals of Medical & Health Sciences Research. 2011; 1 (1): 37-43. DOI: <https://doi.org/10.4314/abs.v9i1.66569>
- [5] Gotoh K, Inoue M, Masaki T, Chiba S, Shimasaki T, Ando H, et al. A novel antiinflammatory role for spleen-derived IL-10 in obesity-induced hypothalamic inflammation. J Neurochem. 2012; 120: 752- 64. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07617.x> [PMid:22146087]

- [6] Hashem HE, El-Din Safwat MD, Algaidi S. The effect of monosodium glutamate on the cerebellar cortex of male albino rats and the protective role of vitamin C (histological and immunohistochemical study). *J Mol Histol.* 2012; 43 (2): 179-86. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10735-011-9380-0> [PMid:22143495]
- [7] Hassan ZA, Arafa MH, Soliman WI, Atteia HH, Al-Saeed HF. The Effects of Monosodium Glutamate on Thymic and Splenic Immune Functions and Role of Recovery (Biochemical and Histological study). *J Cytol Histol.* 2014; 5: 283. DOI: <https://doi.org/10.4172/2157-7099.1000283>
- [8] Liu C, Li M, Cao Y, Qu JP, Zhang ZW, Xu SW, Li S. Effects of avermectin on immune function and oxidative stress in the pigeon spleen. *Chem Biol Interact.* 2014; 210: 43-50. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2013.12.015> [PMid:24412236]
- [9] Zanfrescu A, Cristea AN, Nitulescu GM, Velescu BS, Gradinaru D. Chronic Monosodium Glutamate Administration Induced Hyperalgesia in Mice. *Nutrients.* 2018; 10: 1. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu10010001> [PMid:29267217 PMCID:PMC5793229]