

## ОСОБЛИВОСТІ МОРФОГЕНЕЗУ КІСТОК СКЕЛЕТА НА ТЛІ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ ТАРТРАЗИНУ В УМОВАХ ДЕФЕКТУ КІСТКОВОЇ ТКАНИНИ

Національний університет фізичного виховання і спорту України (м. Київ, Україна)

**Анотація:** Одним з патогенетичних факторів порушення посттравматичної остеорегенерації є хронічне вживання харчових добавок у складі продуктів харчування. Однією з подібних речовин є синтетичний жовтий барвник тартразин (E102), відомостей стосовно впливу якого на темпи остеогенезу і регенерації кісток нечисельні, що актуалізувало появу нашого досліджу. В експерименті було досліджено дію E102, моделювання кісткового дефекту та поєднаного ефекту обох чинників на темпи росту кісток щурів. Моделювання дефекту у кістках призводить до погіршення лінійного і поперечного росту плечових кісток. E102 також несприятливо впливає на інтенсивність процесів остеогенезу, причому аппозиційний ріст кісток страждає більше порівняно з повздожнім. Поєднана дія моделювання кісткового дефекту на тлі тривалого впливу тартразину призводить до найбільш значущих негативних наслідків на темпи росту кісток, що визначається синергічним несприятливим ефектом обох чинників.

**Ключові слова:** кістки, тартразин, морфогенез, кістковий дефект.

**Abstract.** One of the pathogenetic factors of post-traumatic osteoregeneration disorders is the chronic use of food additives as part of food products. One such substance is the yellow dye tartrazine (E102), information on its effect on the rates of osteogenesis and bone regeneration is scarce, which actualized the appearance of our research. In the experiment, the effect of E102, simulation of a bone defect, and the combined effect of both factors on the rate of bone growth in rats were investigated. Modeling the defect in the bones leads to deterioration of the linear and transverse growth of the humerus. E102 adversely affects the intensity of osteogenesis processes, and appositional bone growth suffers more compared to longitudinal bone growth. The combined action of bone defect modeling against the background of long-term exposure to tartrazine leads to the most significant negative consequences on bone growth rates, which is determined by the synergistic adverse effect of both factors.

**Key words:** bones, tartrazine, morphogenesis, bone defect.

### Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами.

Робота є фрагментом НДР Національного Університету фізичного виховання і спорту України (м. Київ) «Морфогенез різних органів і систем організму при нанесенні дефекту в великогомілкових кістках після 60-ти денного введення натрію бензоату або тартразину» (№ державної реєстрації 0113U005755).

### Вступ.

Вирішення проблеми посттравматичної регенерації скелетних тканин в умовах повномасштабної війни в Україні характеризується гострою актуальністю з зв'язку з потужним зростанням кількості пошкоджень кісток внаслідок отриманих поранень. Подібні травми потребують тривалої медичної реабілітації і коштовного лікування [1, 2], що вимагає пошуку шляхів корекції порушень остеорегенерації і впливу на кістковий метаболізм [3, 4]. Незважаючи на високу регенераційну здатність кісткової тканини (КТ), в певних випадках переломи з тих чи інших причин зростаються повільно і з ускладненнями, що потребує додаткового лікування. Одним з патогенетичних чинників порушеної остеорегенерації є хронічний вплив на скелетні тканини харчових добавок з продуктів харчування промислового виробництва. Однією з таких речовин є жовтий барвник тартразин (E102), який отримують з відходів видобутку кам'яного вугілля. Відомості стосовно впливу тартразину на процеси остеогенезу і посттравматичної регенерації кісток скелету вкрай нечисельні [5, 6], що вимагає появи нових досліджень морфогенезу пошкоджених скелетних тканин, особливостей репа-

ративного остеогенезу, біомеханічної міцності кісток скелету тощо під впливом різних харчових добавок.

### Мета дослідження.

Встановити закономірності морфологічних змін кісткової тканини на тлі введення тартразину в умовах нанесення дефекту у великогомілкових кістках.

### Об'єкт і методи дослідження.

Дослідження було проведено на білих безпородних статевозрілих щурах-самцях. Експеримент проводили відповідно до міжнародних принципів Гельсінської декларації «Про гуманне ставлення до тварин», прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (2000) і «Спільними етичними принципами експериментів над тваринами», затвердженими I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Утримання і маніпуляції над лабораторними щурами здійснювали відповідно до правил Європейської конвенції з захисту хребетних тварин (Страсбург, 1986) [7] і положеннями Закону України №3477-IV від 21.02.2006р. «Про захист тварин від жорстокого поводження». Тварини були розподілені наступним чином:

- група К – контрольні тварини, яким щодня вводили 1 мл фіз. розчину;
- група Т – щури, яким щодня вводили тартразин в дозі 1500 мг/кг;
- група Д – щури, яким вводили щодня 1 мл фіз. розчину, по закінченні чого наносили наскрізний дірчастий дефект у проксимальному відділі діафіза обох великогомілкових кісток;
- група ТД – тварини, яким щоденно вводили 1 мл тартразину в дозі 1500 мг/кг, після чого завдавали

Таблиця – Параметри остеометрії (у мм) плечових кісток щурів після 60-добового застосування тартразину (X±Sx)

Група	Термін, доба	Величини параметрів остеометрії плечових кісток, у мм				
		Найбільша довжина	Ширина проксимального епіфізу	Ширина дистального епіфізу	Товщина середини діяфізу	Ширина середини діяфізу
К	3	27,99±0,34	5,74±0,05	6,51±0,08	2,47±0,04	2,37±0,04
	10	28,21±0,38	5,81±0,08	6,57±0,06	2,54±0,04	2,43±0,04
	15	28,34±0,34	5,84±0,07	6,64±0,08	2,56±0,04	2,47±0,04
	24	28,53±0,35	5,89±0,07	6,73±0,08	2,59±0,05	2,47±0,04
	45	28,87±0,36	6,01±0,07	6,93±0,07	2,63±0,04	2,53±0,04
Т	3	26,84±0,36*	5,39±0,08*	6,17±0,10*	2,26±0,04*	2,17±0,04*
	10	26,94±0,43*	5,43±0,06*	6,24±0,09*	2,23±0,04*	2,20±0,03*
	15	27,08±0,44*	5,47±0,07*	6,26±0,09*	2,29±0,04*	2,26±0,04*
	24	27,13±0,40*	5,57±0,07*	6,31±0,08*	2,37±0,04*	2,31±0,05*
	45	27,99±0,43	5,74±0,08*	6,60±0,09*	2,46±0,04*	2,34±0,04*
Д	3	27,79±0,30	5,61±0,08	2,31±0,04	2,41±0,04	6,46±0,07
	10	27,83±0,40	5,62±0,07	2,34±0,04	2,46±0,03	6,50±0,10
	15	27,89±0,29	5,67±0,05	2,36±0,04	2,47±0,04	6,51±0,08
	24	27,97±0,23	5,67±0,05#	2,35±0,04#	2,49±0,05	6,53±0,08
	45	28,06±0,31	5,86±0,06	2,47±0,04	2,57±0,03	6,70±0,04#
ТД	3	26,77±0,35*	5,34±0,08*	2,15±0,04*	2,20±0,03*	6,16±0,09*
	10	26,91±0,35	5,38±0,06*	2,18±0,04*	2,21±0,03*	6,16±0,09*
	15	26,91±0,29*	5,41±0,08*	2,21±0,05*	2,24±0,04*	6,20±0,08*
	24	27,03±0,35*	5,50±0,06*	2,23±0,04*	2,31±0,03*	6,25±0,09*
	45	27,36±0,43	5,65±0,07*	2,35±0,04*	2,41±0,04*	6,50±0,08*

наскрізний дірчастий дефект у проксимальному відділі діяфіза обох великогомілкових кісток.

Схема експерименту включала у себе щоденне уведення тваринам протягом 60 діб тартразину (групи Т і ТД), або фізіологічного розчину (групи К і Д). Порошок тартразину (Roha Dychem Pvt Ltd (A/44 & A45, Road № 2, MIDC Andheri (East), Mumbai, India) застосовували у вигляді розчину, в дозі 1500 мг/кг маси тіла, який вводили щурам за допомогою шлункового зонду 1 раз на добу щодня впродовж 60-ти діб. По закінченні цього з'ясовували особливості гістологічної будови діяфізів плечових кісток (ПК) в різні періоди реадaptaції (3, 10, 15, 24, 45 доба), що відповідає стадіям процесу репаративної регенерації кістки [8]. Відбирали по 7 особин на кожен термін реадaptaції. По досягненні відповідного періоду реадaptaції тварин декапітовували під ефірним масковим наркозом, виділяли і скелетували плечові кістки (ПК), остеометрію яких проводили штангенциркулем із точністю до 0,05 мм. Програма остеометрії включала наступні показники: найбільша довжина кістки, найбільша ширина проксимального і дистального епіфізів, найбільша ширина і передньо-задній розмір середини діяфізу. Для вивчення морфогенезу кісток в умовах пошкодження кісткової тканини, тваринам груп Д і ТД під ефірним масковим наркозом стандартним стоматологічним бором (діаметр 2,2 мм) завдавали наскрізний дірчастий дефект у проксимальному відділі діяфіза обох великогомілкових кісток. Означена величина змодельованого дефекту визначається необхідністю збереження умов для

функціонального навантаження на нижню кінцівку і виключення її іммобілізації [9].

Всі розрахунки і параметри приведені у відповідність із міжнародною системою одиниць. Отримані цифрові дані обробляли методами варіаційної статистики з використанням стандартних прикладних програм.

**Результати дослідження та їх обговорення.**

Дані остеометричних параметрів, отриманих протягом нашого дослідження, наведені у таблиці.

Як видно з табл., дія тартразину призвела до уповільнення темпів як лінійного, так і апозиційного остеогенезу ПК, про що свідчить відставання у габаритних розмірах плечової кістки по всім виміряним параметрам. Найбільш значущим означене відставання було на 3 добу після відміни впливу E102.

Найсильніше відставав від контрольних значень передньо-задній розмір середини діяфіза означеної кістки на 12,36 % (p<0,05) у групі Т на 3 добу, що є свідченням того факту, що ефект барвнику тартразину найбільш несприятливо вплинув на темпи поперечного росту плечових кісток щурів. Суттєві ознаки уповільнення апозиційного остеогенезу переважно у діяфізі дозволяють висунути припущення, що E102 також більш значно погіршує біомеханічні властивості означених кісток внаслідок суттєвого відставання темпів апозиційного росту порівняно зі швидкістю лінійного остеогенезу. Варто зазначити, що на більш пізніх термінах спостереження (24 і 45 доба) остеометричні параметри ПК у своїй більшості наближалися до референтних норм контрольної групи із незначним відставанням від них, що свідчить про

доволі потужні властивості кісткової тканини до відновлення своєї гістохімічної структури після відміни застосування E102.

Нанесення дефекту у великогомілкових кістках щурів також супроводжується помітним уповільненням темпів росту ПК, порівняно з параметрами контрольної групи. Достовірні відмінності досліджених плечових кісток від аналогічних характеристик кісток щурів контрольної групи спостерігалися здебільшого протягом перших 24 діб після нанесення дефекту, після чого поступово зникали. Варто зауважити, що моделювання кісткового дефекту вплинуло на параметри темпів як лінійного, так і поперечного росту кісток меншою мірою, ніж хронічне уведення тартразину.

Найбільш значущі відмінності порівняно з референтними значеннями на всіх термінах реадaptaції зафіксовано у щурів групи ТД, яким після тривалого уведення барвнику E102 моделювали кістковий дефект. Зменшення величин усіх виміряних параметрів остеометрії ПК характеризувалося статистично вірогідною відмінністю зберігалось на всіх термінах спостереження. Вплив умов групи ТД супроводжувався достовірно підтвердженим пригніченням темпів росту досліджених кісток (див. **таблицю**). У всі терміни реадaptaції максимальна довжина ПК була меншою порівняно зі значеннями групи К, групи Т і групи Д. Загальна ширина проксимального епіфізарного хряща у ПЛ з 3 по 45 добу була меншою від значень групи Д відповідно на 10,33% ( $p<0,05$ ), 7,82% ( $p<0,05$ ), 6,93% ( $p<0,05$ ), 8,28% ( $p<0,05$ ) і 3,94% відповідно. З 3 по 45 добу ширина проксимального і дистального епіфізу ПК була меншою від значень групи Д відповідно на 4,83% ( $p<0,05$ ), 4,32%, 4,53% ( $p<0,05$ ), 3,02% і 3,54% та на 4,54% ( $p<0,05$ ), 4,16%, 4,82% ( $p<0,05$ ), 4,27% і 2,99%. Ширина і передньо-задній розмір середини діяфізу ПЛ були меншими значень групи Д на 7,10% ( $p<0,05$ ), 7,01% ( $p<0,05$ ), 6,34% ( $p<0,05$ ), 5,17% і 4,91% та на 8,88%, 10,14%, 9,54%, 6,90% і 6,11% (усі –  $p<0,05$ ).

Умови досліду в групі ТД призводили до порушень гістологічної будови середини діяфіза ПК – загальна ширина діяфіза була меншою значень групи Д з 3 по 45 добу відповідно на 10,60% ( $p<0,05$ ), 9,68% ( $p<0,05$ ), 9,51%, 8,64% ( $p<0,05$ ) і 4,37%. Таким чином, вплив умов групи ТД супроводжувався маніфестацією порушення гістологічної будови середини діяфізу ПЛ. Порівняно з групою Т, означені явища спостерігалися з 10 по 45 добу, а порівняно з тваринами групи Д – із 3 по 45 добу реадaptaції. Якщо моделюванню дефекту передувало введення E102, то на гістологічному рівні спостерігалася депресія ростових зон – звуження ширини проксимального епіфізарного хряща (до 10,33%,  $p<0,05$ , 3 доба) за рахунок зменшення ділянки первинного остеогенезу (максимально на 11,62%, 3 доба,  $p<0,05$ ).

Таким чином, моделювання кісткового дефекту на тлі тривалого застосування барвнику тартразину, демонструє маніфестацію максимального (порівняно з усіма іншими групами пригнічення) пригнічення темпів поздовжнього й аппозиційного росту досліджуваних кісток, яке було обумовлено змінами гістологічної будови епіфізарних хрящів і компактної речовини діяфізів. Описані зміни, в порівнянні з групами К, Т і Д, спостерігалися протягом усього періоду спостереження.

### Висновки.

Моделювання дефекту у великогомілкових кістках призводить до погіршення темпів лінійного і поперечного росту плечових кісток. Тривалий вплив барвнику тартразину також характеризується несприятливим впливом на інтенсивність процесів остеогенезу, причому аппозиційний ріст кісток під дією E102 страждає більше порівняно з повздовжнім. Поєднана дія моделювання кісткового дефекту на тлі тривалого впливу тартразину призводить до найбільш значущих негативних наслідків на темпи росту кісток, що визначається синергічним несприятливим ефектом обох чинників.

### Література

1. Greising SM, Corona BT, Call JA. [Musculoskeletal Regeneration, Rehabilitation, and Plasticity Following Traumatic Injury](#). Int J Sports Med. 2020;41(8):495-504. DOI: [10.1055/a-1128-7128](#).
2. Zozulia IS, Volosovets AO, Zozulia AI. *Травматична хвороба: догоспітальна допомога*. Українські медичні часописи. 2023;6(158):58-61. [in Ukrainian].
3. Nicholson JA, Makaram N, Simpson A, Keating JF. Fracture nonunion in long bones: A literature review of risk factors and surgical management. Injury. 2021;52(2):S3-S11. DOI: [10.1016/j.injury.2020.11.029](#).
4. Tsukagoshi Y, Matsushita Y. Bone regeneration: A message from clinical medicine and basic science. Clin Anat. 2022;35(6):808-819. DOI: [10.1002/ca.23917](#).
5. Lukiantseva HV, Pastukhova VA, Kovalchuk OI, Dutchak UM. Zminy khimichnoho skladu plechovykh kistok shchuriv pid vplyvom zhovtoho barvnyku tartrazynu. Svit medytsyny ta biolohii. 2019;4(70):203-8. [in Ukrainian].
6. Feng Y, Cai Z, Cheung WK, Yang K, Xu L, Lu WW, et al. Multichromatic TTF staining characterizes cartilage matrix in osteoarthritis and bone development. Histo Histopathol. 2019;34(3):275-286. DOI: [10.14670/HH-18-044](#).
7. Council of Europe. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose. Strasbourg: Council of Europe; 1986. 52 p.
8. Korzh NA, Deduh NV, Nikolchenko OA. *Reparativnaya regeneraciya kosti: sovremennyj vzglyad na problemu. Sistemnye faktory, vliyayushie na zazhivlenie pereloma. Ortopediya, travmatologiya i protezirovanie*. 2006;2:93-9.
9. Luzin VI, Ivchenko DV, Pankratev AA. *Metodika modelirovaniya kostnogo defekta u laboratornykh zhivotnykh*. Ukrayinskij medichnij almanah. 2005;8(2):162-9.