

DOI: 10.21802/artm.2021.1.17.11.
УДК 616-056.257:611.018.53

ЗМІНИ СТРУКТУРНОЇ ОРГАНІЗАЦІЇ СЕЛЕЗІНКИ ЗА УМОВ ВПЛИВУ ГЛУТАМАТУ НАТРІЮ ТА ПІСЛЯ ЙОГО ВІДМІНИ

Т.В. Гарапко¹, А.С. Головацький¹, Л.Р. Матешук-Вацеба², О.О. Содомора²

¹ДВНЗ «Ужгородський національний університет», кафедра анатомії людини та гістології, м. Ужгород, Україна,

²Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра нормальної анатомії, м. Львів, Україна,

ORCID ID: 0000-0002-9206-9827, ORCID ID: 0000-0002-9908-5790,

ORCID ID: 0000-0002-3466-5276, ORCID ID: 0000-0002-3434-5109,

e-mail: garapkotv@gmail.com

Резюме. Актуальність. Глутамат натрію є однією з найпоширеніших харчових добавок в світі.

Мета дослідження: вивчити морфометричні, гістологічні та електронно-мікроскопічні зміни паренхіми селезінки щурів за умов впливу глутамату натрію та після його відміни.

Методи. Мікροанатомію компонентів селезінки білих щурів за умов фізіологічної норми дослідили на 10 інтактних тваринах. Експериментальні тварини поділені на 3 групи.

Результати. Через вісім тижнів дії глутамату натрію виявлено достовірне зменшення відносної площі білої пульпи в паренхімі селезінки білих щурів самців та самок, зростання кількості моноцитів, макрофагів, плазматичних клітин та клітин мієлоїдного ряду, зростання частки ретикулярної сполучної тканини в складі селезінкових тяжів червоної пульпи. Еритроцити та тромбоцити заповнюють не лише просвіт пазух селезінки, але й накопичуються в пульпарних тяжах, велика кількість лімфоцитів на різних стадіях апоптозу. Збільшення кількості плазматичних клітин свідчить про пришвидшення проліферації активованих лімфоцитів, що є ознакою імуноіндукуючого ефекту. Через чотири тижні після відміни глутамату натрію гістологічна та електронно-мікроскопічна будова органа майже не відрізняється від попередньої групи тварин. Зростає повнокрів'я судин паренхіми селезінки, щільність клітин зменшується. Збільшується кількість апоптично змінених клітин.

Висновки. Через вісім тижнів після відміни глутамату натрію зворотних змін у структурі паренхіми селезінки не виявлено. Отже, відміна введення глутамату натрію після його тривалого впливу не «покрощує» морфометричних показників паренхіми селезінки щурів та не призводить до відновлення структурної організації органа.

Ключові слова: експеримент, селезінка, глутамат натрію, біла пульпа, червона пульпа.

Вступ. У наш час важко уявити харчову промисловість без використання харчових добавок, серед яких однією з найпоширеніших не лише в Україні, але й у цілому світі є глутамат натрію (MSG, C₅H₈NO₄NaH₂O) [1-4]. Це натрієва сіль глутамінової кислоти, часто трапляється в природі, існує як вільна речовина глутамат, так і зв'язана з іншими амінокислотами в білку [5, 6]. Вона належить до групи підсилювачів смаку, що використовуються в широкому асортименті продуктів, наприклад супах, соусах, пудингах, чіпсах, м'ясних продуктах та змішаних приправах [7]. Глутамат натрію не лише підсилює смак продуктів, але й підвищує апетит, що, своєю чергою, веде до збільшення кількості спожитої їжі, яка містить харчові добавки, замикаючи коло, що і є основою висококалорійної дієти (ВКД), яка використовується в дослідженнях [8, 9, 10].

За даними літератури, введення глутамату натрію новонародженим щурам призводить до руйнування вентромедіального та дугових ядер гіпоталамуса, порушує передачу лептинового та інсулінового сигналів у цій ділянці, призводячи до гіперлептинемії та гіперінсулінемії. Таким чином, введення новонародженим щурам глутамату натрію викликає ураження

гіпоталамусу і, як наслідок, призводить до нейроендокринних та метаболічних змін [11].

Згідно з іншими дослідженнями, автори прийшли до висновку, що глутамат натрію призводить до ожиріння [12]. Також встановлено, що додавання глутамату натрію в раціон щурів зменшує виведення Na, K та води з організму. Затримка NaCl призводить до гіпертонії, супроводжується патологічними змінами в нирках, внутрішньонирковим окислювальним стресом та зменшенням виділення оксиду азоту [13].

Однак, всупереч широкій розповсюдженості, не достатньо вивченим залишається вплив глутамату натрію на організм [4]. Тому актуальним питанням сьогодення, як медичним, так і соціальним, є вивчення впливу добавок, зокрема глутамату натрію, на стан організму в цілому та структуру тканин і органів безпосередньо. Важливу роль для гомеостазу всього організму відіграють органи кровотворення та імунного захисту, зокрема селезінка [14].

Мета дослідження: вивчити морфометричні, гістологічні та електронно-мікроскопічні зміни паренхіми селезінки щурів в умовах впливу глутамату натрію та після його відміни.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на 52 білих щурах самцях та самках репродуктивного віку (2,5–6,5-місячних) масою 120–300 г.

Мікроанатомію структурних компонентів селезінки білих щурів за умов фізіологічної норми дослідили на 10 інтактних тваринах. Експериментальних тварин поділено на 3 групи: перша група (10 тварин), яких протягом восьми тижнів годували ВКД; друга група (10 тварин), яких упродовж восьми тижнів годували ВКД, після чого переводили на стандартний харчовий раціон віварію впродовж 4 тижнів; третя група (10 тварин), яких упродовж восьми тижнів годували ВКД, після чого переводили на стандартний харчовий раціон віварію впродовж 8 тижнів. У кожній групі було 5 щурів-самців та 5 щурів-самиць. ВКД досягали, додаючи в їжу глютамат натрію в дозі 0,07 г/кг маси тіла щура.

Контролем слугували 12 білих щурів, які замість висококалорійної дієти отримували стандартний харчовий раціон віварію впродовж 8, 12 та 16 тижнів.

Усіх піддослідних тварин утримували в умовах віварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Дослідження проводили згідно з положеннями «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986), Директивами Ради Європи 86/609/ЄЕС (1986), Законом України №3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», загальними етичними принципами експериментів на тваринах, ухваленими Першим національним конгресом України з біоетики (2001).

Перед забором матеріалу тварин виводили з експерименту шляхом передозування наркозу диетилловим ефіром.

Морфометричні дослідження проводили у визначені терміни досліду на гістологічних препаратах, забарвлених гематоксиліном і еозином за допомогою програм ВидеоТест-5.0, КААРА Image Base, Stepanizer та Microsoft Excel на персональному комп'ютері. Статистичну обробку цифрових даних виконували за допомогою програмного забезпечення «Excel» та «STATISTICA» 6.0 з використанням параметричного методу.

Для електронної мікроскопії шматочки селезінки фіксували 1,5 % розчином чотириоксиду осмію в 0,2 М розчині какодилату натрію при рН 7,2 протягом 2–2,5 годин на холоді. Зневоднення в зростаючих концентраціях етилового спирту (50°, 70°, 90° і абсолютному) по 30 хв у кожному та пропіленоксиді 10 хв. Заливали матеріал в суміш епоксидних смол та полімеризували 24 год. в термостаті при 60° С. Зрізи виготовляли на ультрамікротомі 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-N9. Півтонкі зрізи товщиною 1–2 мкм виготовляли на ультрамікротомі LKB-3 (Швеція). Їх забарвлювали метиленовим синім.

Результати дослідження. Будова селезінки інтактних тварин на клітинному і субклітинному

рівнях відповідає видовій нормі. Капсула оточує селезінку зовні, від капсули всередину органа відходять селезінкові перекладки. Паренхіму утворює біла та червона пульпа. Біла пульпа складається з лімфоїдних навколоартеріальних піхв та лімфоїдних вузликів селезінки. Лімфоїдні вузлики містять світліший центр розмноження, навколо нього темніша мантийна зона, яку оточує крайова зона, що межує з червоною пульпою (рис. 1). Ексцентрично розташована центральна артерія, яка оточена навколоартеріальною зоною. Червона пульпа представлена скупченнями клітин крові, які оточені ретикулярними клітинами.

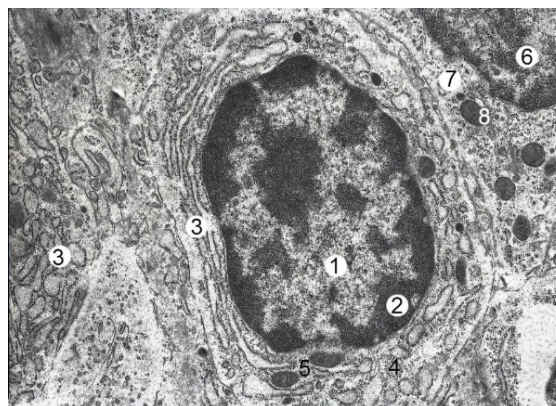


Рис. 1. Фрагмент селезінки інтактного білого щура-самця. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Зб.: об.×20, ок.×10. Позначення: 1 – центр розмноження лімфоїдного вузлика в білій пульпі; 2 – навколоартеріальна зона; 3 – мантийна зона; 4 – крайова зона; 5 – лімфоїдна навколоартеріальна піхва; 6 – піхвова артерія білої пульпи; 7 – червона пульпа.

Капсула та перекладки селезінки утворюють опорно-скоротливий апарат селезінки. Вони містять колагенові та еластичні волокна, а також пучки гладких міоцитів. Біла пульпа складається з лімфоцитів, плазмочитів, макрофагів, дендритних та інтердигітуємих клітин. Ці клітини, накопичуючись, утворюють лімфоїдні вузлики та та навколоартеріальні піхви. Червона пульпа, своєю чергою, утворена накопиченням формених елементів крові у венозних пазухах (синусоїдах) селезінки або в оточенні ретикулярних клітин. Центр розмноження лімфоїдних вузликів містить в основному В-лімфоцити, а навколоартеріальна зона Т-лімфоцити. Малі лімфоцити містять невелике округле ядро, що оточене тоненькою смужкою цитоплазми. Середні лімфоцити мають менше ядерно-цитоплазматичне співвідношення, ніж малі лімфоцити, цитоплазма містить мітохондрії та гранулярну ендоплазматичну сітку (ГЕС). Великі лімфоцити містять ядро, в якому переважає еухроматин. Ретикулярні клітини мають видовжені ядра з чіткими контурами ядерної оболонки. Їхня клітинна оболонка утворює відростки, якими вони формують клітинні контакти та селезінкові тяжі. Плазмочити та макрофаги мають характерну будову (рис. 2). Цитоплазма макрофагів помірно завантажена частинами ядер інших клітин та залишками формених елементів крові. Плазмочити чітко

відрізняються від інших клітин ексцентрично розташованим ядром та типовою конденсацією хроматину.

Через вісім тижнів дії глютаамату натрію (перша експериментальна група тварин) достовірно зменшується ($p < 0,05$) відносна площа білої пульпи в паренхімі селезінки білих щурів самців та самок відповідно на 16,2 % та 17,4 % порівняно з параметрами

інтактної групи тварин, а саме, до $21,59 \pm 1,22$ % та $21,78 \pm 1,3$ % (див. табл. 1). Відносна площа червоної пульпи збільшується до $78,41 \pm 1,45$ % у щурів-самців, та до $78,22 \pm 1,54$ % у щурів-самок. Ці показники на 5,6 % та 6,2 % перевищують параметри інтактної групи тварин (табл. 1).

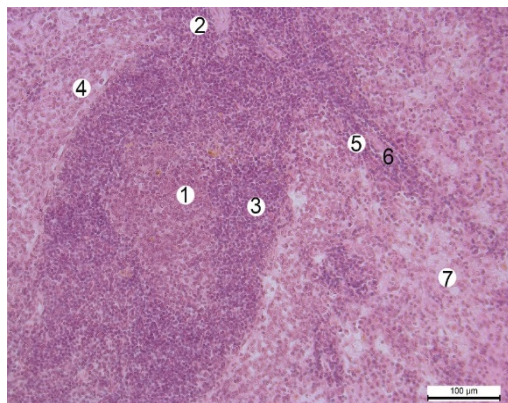


Рис. 2. Електронно-мікроскопічна організація фрагменту мантийної зони лімфоїдного вузлика білої пульпи селезінки білого щура-самця інтактної групи. Електронна мікрофотографія. Зб.: $\times 8000$. Позначення: 1 – еухроматин в ядрі плазматичної клітини; 2 – гетерохроматин; 3 – цитоплазма плазматичної клітини; 4 – гранулярна ендоплазматична сітка в цитоплазмі плазматичної клітини; 5 – мітохондрії; 6 – ядро середнього лімфоцита; 7 – цитоплазма середнього лімфоцита; 8 – мітохондрії в цитоплазмі середнього лімфоцита.

Таблиця 1

Динаміка змін відносної площі червоної та білої пульпи селезінки білих щурів контрольної та експериментальних груп ($M \pm m$)

Група тварин	Щури-самці		Щури-самки	
	S _{білої.п.} , %	S _{черв.п.} , %	S _{білої.п.} , %	S _{черв.п.} , %
Інтактні тварини	$25,78 \pm 1,18$	$74,22 \pm 1,33$	$26,38 \pm 1,02$	$73,62 \pm 1,42$
1 група – 8 тижнів ВКД	$21,59 \pm 1,22^*$	$78,41 \pm 1,45^*$	$21,78 \pm 1,31^*$	$78,22 \pm 1,54^*$
2 група – 8 тижнів ВКД, 4 тижні відміни	$21,51 \pm 1,09^*$	$78,49 \pm 1,56^*$	$21,19 \pm 0,69^*$	$78,81 \pm 1,23^*$
3 група – 8 тижнів ВКД, 8 тижнів відміни	$21,46 \pm 1,05^*$	$78,54 \pm 1,54^*$	$21,91 \pm 1,23^*$	$78,09 \pm 1,43^*$

Примітки: * – величини, які статистично достовірно відрізняються від показників інтактної групи тварин ($p < 0,05$).

У білій пульпі селезінки збільшується кількість вторинних лімфоїдних вузликів, центр розмноження дещо деформований, межі між зонами не чіткі. В паренхімі органа зросла кількість моноцитів, макрофагів, плазматичних клітин та клітин мієлоїдного

ряду. Макрофаги в активному стані, їх цитоплазма заповнена рештками клітин та еритроцитів, залишками гемосидерину та осміофільними включеннями (рис.3).

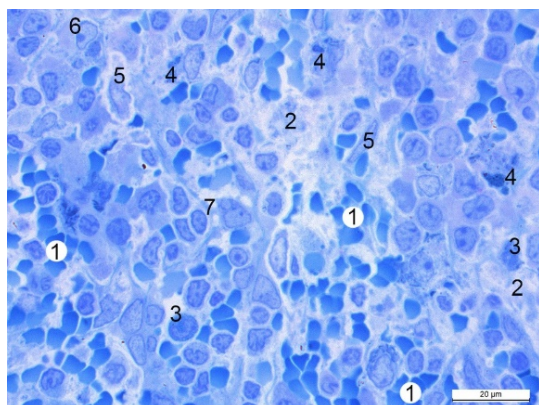


Рис. 3. Фрагмент червоної пульпи селезінки білого щура-самки через вісім тижнів ВКД. Напівтонкий зріз. Забарвлення метиленовим синім Зб.: $\times 1000$. Позначення: 1 – накопичення формених елементів крові в червоній пульпі; 2 – ділянки клітинної деструкції; 3 – макрофаги з краплями гемосидерину в цитоплазмі; 4 – апоптично змінені клітини; 5 – видовжені деформовані ретикулярні клітини; 6 – лімфоцити; 7 – ретикулярна сполучна тканина селезінкового тяжа.

Залишки гемосидерину також наявні в міжклітинних просторах, що є свідченням загибелі еритроцитів. Зросла частка ретикулярної сполучної тканини в складі селезінкових тяжів червоної пульпи. Венозні пазухи червоної пульпи повнокровні, їхній просвіт

розширений та дещо деформований. Навколо судин та венозних пауз є ознаки набряку. Збільшення кількості плазматичних клітин свідчить про пришвидшення проліферації активованих лімфоцитів, що є ознакою імуніндукуючого ефекту при ВКД.

У результаті «перевантаження» уламками клітин, осміюфільними включеннями та залишками гемосидерину багато макрофагів апоптично змінені. Ядра лімфоцитів деформовані, ядерна оболонка утворює численні випинання та заглиблення, цитоплазма просвітлена, майже не містить органел. Ядра ретикулярних клітин видовжені, цитоплазматичні відростки деформовані, потовжені та набряклі. Еритроцити та тромбоцити заповнюють не лише просвіт пазух селезінки, але й накопичуються в селезінкових тяжках. Велика кількість лімфоцитів перебуває на різних стадіях апоптозу.

Через 4 тижні після відміни ВКД (друга експериментальна група тварин) відносна площа білої пульпи в паренхімі селезінки і надалі зменшувалася до $21,51 \pm 1,09\%$ у щурів-самців та до $21,19 \pm 0,69\%$ у щурів-самок та була на $0,7\%$ та $1,6\%$ відповідно меншою порівняно з попередньою групою тварин та на $16,6\%$ та $19,7\%$ відповідно достовірно ($p < 0,05$) меншою від параметрів інтактної групи тварин (див. табл. 1). Відносна площа червоної пульпи збільшилася до $78,49 \pm 1,56\%$ у щурів-самців та до $78,81 \pm 1,23\%$ у щурів-самок. Ці показники є більшими від параметрів попередньої групи тварин відповідно на $0,2\%$ і $0,4\%$, та на $5,8\%$ і $7,0\%$ перевищують параметри інтактної групи тварин (див. табл. 1). Гістологічна та електронно-мікроскопічна будова органа майже не відрізняється від результатів попередньої групи тварин. Зростає повнокрів'я паренхіми селезінки, щільність клітин зменшується (рис. 4). Зростає частка апоптично змінених клітин.

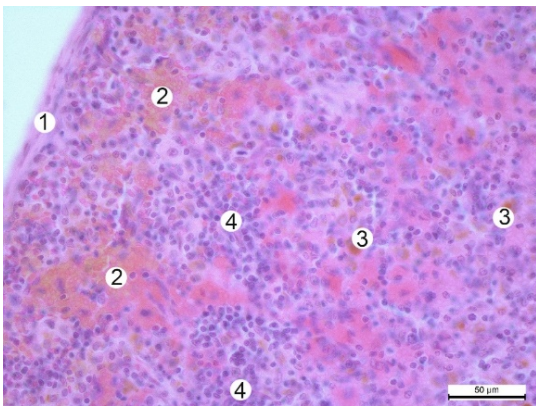


Рис. 4. Фрагмент селезінки білого щура-самки через чотири тижні після відміни ВКД. Забарвлення гематоксиліном і еозином. Об. $\times 40$, ок. $\times 10$. 1 – капсула; 2 – адгезія еритроцитів та тромбоцитів у червоній пульпі; 3 – накопичення гемосидерину та ліпідів у червоній пульпі; 4 – скупчення лімфоцитів.

Навіть через 8 тижнів після відміни глютаму натрію зворотних змін у структурі паренхіми селезінки не виявлено. Лімфоїдна тканина зазнає виснаження, що проявляється зменшенням відносної площі білої пульпи, зменшенням щільності лімфоїдних клітин, зростанням частки апоптично змінених лімфоцитів та плазматичних клітин (рис. 5).



Рис. 5. Електронно-мікроскопічна організація фрагменту червоної пульпи селезінки білого щура-самця через вісім тижнів після відміни ВКД. Електронна мікрофотографія. Зб.: $\times 6000$. Позначення: 1 – апоптоз; 2 – деформоване ядро лімфоцита; 3 – просвітлена цитоплазма; 4 – еритроцит; 5 – осміюфільні (жирові) включення; 6 – ретикулярна клітина в товщі селезінкового тяжка; 7 – цитоплазма ретикулярної клітини; 8 – ділянка клітинної деструкції.

Площа лімфоїдних вузликів та розміри їх центрів розмноження зменшуються, диференціація їх на зони прослідковується не всюди. Апоптоз клітин призводить до утворення ділянок деструкції. Селезінкові тяжі (тяжі Більбота) червоної пульпи потовщуються, що зумовлено збільшенням частки ретикулярної сполучної тканини в їх товщі, вони стають більш звивистими.

Обговорення результатів. Гіпоплазію білої пульпи селезінки зі зменшенням Т-лімфоцитарної зони, каріорексис та апоптоз клітин червоної пульпи, що ми спостерігали при тривалому споживанні глютаму натрію експериментальними щурами, описують інші автори при введенні білим щурам наночастинок SiO_2 разом із ацетатом свинцю [15]. Також спостерігали різке збільшення кількості залізовмісного пігменту, що відображає процес загибелі еритроцитів. Поряд із цим виявлено формування дифузних дрібновогнищевих скупчень лімфоцитів у червоній пульпі по ходу судин.

Встановлено, що висококалорійна дієта, порівняно зі звичайним стандартним харчуванням, знижує експресію CD20, поверхневої молекули присутньої на В-клітинах, яка відіграє важливу роль в імунній відповіді та виробляє IL-10 переважно в селезінці. Важливо, що проліферація спленоцитів, стимульована мітогенами Через вісім тижнів після відміни ВКД (третя експериментальна група тварин) відносна площа білої пульпи в паренхімі селезінки білих щурів самців та самок майже не змінюється порівняно з попередньою групою тварин та становить відповідно $21,46 \pm 1,05\%$ і $21,91 \pm 1,23\%$, що на $16,8\%$ та $16,9\%$ достовірно ($p < 0,05$) менше від параметрів інтактної групи тварин (табл. 1). Відносна площа червоної пульпи селезінки становить $78,54 \pm 1,54\%$ у щурів-самців, та до $78,09 \pm 1,43\%$ у щурів-самок, що на $5,8\%$ та $6,1\%$ перевищує показники інтактної групи тварин (табл. 1).

T-клітин та В-клітин, була значно нижчою у осіб з ожирінням. Таким чином, функції як T-клітин, так і В-клітин у селезінці можуть бути порушені при ожирінні. Автори припускають, що індуковане ожирінням зниження синтезу IL-10 в селезінці може призвести до запальних реакцій у нирках та до порушень обміну речовин [16].

Описано, що ожиріння зменшує розмір пахвинних лімфатичних вузлів, погіршує транспорт лімфи та міграцію клітин до периферійних лімфатичних вузлів та зменшує кількість T-лімфоцитів у лімфатичних вузлах. У цілому ожиріння порушує цілісність імунної системи і призводить до змін у розвитку лейкоцитів, їх міграції та різноманітності [17, 18].

Результати проведеного дослідження, в якому експериментальні тварини отримували висококалорійну дієту, що включала 20% білка, 20% вуглеводів і 60% жирів упродовж двох тижнів, свідчать про те, що в паренхімі лімфатичних вузлів зростає частка макрофагів та стромальних клітин, які містять ліпідні включення. Для порівняння використана група тварин, яка отримувала низькокалорійну дієту, яка включала 20% білка, 70% вуглеводів і 10% жирів упродовж двох тижнів. Автори довели, що стромальні клітини експресують велику кількість генів, пов'язаних з метаболізмом ліпідів, що свідчить про те, що лімфатичні вузли беруть участь у ліпідному обміні [19].

Встановлено також, що збільшення маси тіла має лінійну негативну кореляцію з функцією лімфатичних органів. Окрім того, ожиріння призводить до зниження щільності лімфатичних судин та зменшення наповнення судин. Автори показали, що збільшення маси тіла та ступеня ожиріння призводять до прогресування навколелімфатичного накопичення клітин запалення [20].

Висновки. У результаті дослідження, проведеного на щурах самців та самках, нами встановлено, що через вісім тижнів впливу глутамату натрію достовірно зменшується відносна площа білої пульпи в паренхімі селезінки білих щурів самців та самок, але збільшується кількість вторинних лімфоїдних вузликів, а також кількість моноцитів, макрофагів, плазматичних клітин та клітин мієлоїдного ряду, зростає частка ретикулярної сполучної тканини в складі селезінкових тяжів червоної пульпи. Еритроцити та тромбоцити заповнюють не лише просвіт пазух селезінки, але й накопичуються в селезінкових тяжках, значно збільшується кількість лімфоцитів на різних стадіях апоптозу.

Через 8 тижнів після відміни глутамату натрію зворотних змін у структурі паренхіми селезінки не виявлено. Таким чином, відміна введення глутамату натрію не «покрашує» морфометричних показників паренхіми селезінки щурів та не відновлює структуру організації органа.

Перспективи подальших досліджень. Пов'язані з вивченням морфометричних, гістологічних та електронно-мікроскопічних змін структурних компонентів селезінки щурів при корекції впливу глутамату натрію.

References:

1. Buchan L, Chaheyla R, Fisher A, Hellings A, Castro M, Al-Nakkash L, Broderick TL, et al. High-fat, high-

sugar diet induces splenomegaly that is ameliorated with exercise and genistein treatment. *BMC Res Notes*. 2018; 11:752-8. doi: 10.1186/s13104-018-3862-z.

- Moneim WMA, Yassa HA, Makboul RA, Mohamed NA. Monosodium glutamate affects cognitive functions in male albino rats. *Egypt J Forensic Sci*. 2018; 8:e9. doi: 10.1186/s41935-018-0038-x.
- Nnadozie JO, Chijioke UO, Okafor OC, Olusina DB, Oli AN, Nwonu PC, Mbagwu HO, et al. Chronic toxicity of low dose monosodium glutamate in albino Wistar rats. *BMC Res Notes*. 2019; 12(1):e593. doi: 10.1186/s13104-019-4611-7.
- Zanfirescu A, Cristea AN, Nitulescu GM, Velescu BS, Gradinaru D. Chronic Monosodium Glutamate Administration Induced Hyperalgesia in Mice. *Nutrients*. 2018; 10:e1. doi: 10.3390/nu10010001.
- Calis UI, Cosan TD, Saydam F, Kolac KU, Soyocak A, Kurt H, Gunes HV, et al. The Effects of Monosodium Glutamate and Tannic Acid on Adult Rats. *Iran Red Crescent Med J*. 2016; 18(10):e37912. doi: 10.5812/ircmj.3791.
- Vorhees CVA. Test of Dietary Monosodium Glutamate Developmental Neurotoxicity in Rats: A Reappraisal. *Ann Nutr Metab*. 2018; 73(5):36-42. doi: 10.1159/000494781.
- Hussein U, Hassan N, Elhalwagy M, Zaki A, Abubakr H, Venkata KN, Jang KY, et al. Ginger and Propolis Exert Neuroprotective Effects against Monosodium Glutamate-Induced Neurotoxicity in Rats. *Molecules*. 2017; 22(11):e1928. doi: 10.3390/molecules 22111928.
- Bhandari U. Effect of Embelin in Monosodium Glutamate Induced Obesity in Male Neonatal Wistar Rats. *Atheroscler. Suppl*. 2018; 32:e138. doi: 10.1016/j.atherosclerosissup.2018.04.423.
- Giles E, Jackman M, MacLean P. Modeling Diet-Induced Obesity with Obesity-Prone Rats: Implications for Studies in Females. *Front Nutr*. 2016; 3:50-5. doi: 10.3389/fnut.2016.00050.
- Krynyska I, Marushchak M, Naumova L, Mazur L. The Toxic Impact of Monosodium Glutamate in Rats. *J Med J*. 2019; 53(2):91-101.
- Konopelniuk VV, Prybytko Iu, Tsyriuk OI, Falalieieva TM. Pathophysiological characteristics of the experimental model of obesity in female rats caused by neonatal administration of monosodium glutamate. *Scientific Journal «ScienceRise: Biological Science»*. 2016; 3(3):14-8.
- Bautista RJH, Mahmoud AM, Königsberg M, Guerrero NELD. Obesity: Pathophysiology, monosodium glutamate-induced model and anti-obesity medicinal plants. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019; 111:503-16. doi: 10.1016/j.biopha.2018.12.108.
- Contini MC, Fabro A, Millen N, Benmelej A, Mahieu S. Adverse effects in kidney function, antioxidant systems and histopathology in rats receiving monosodium glutamate diet. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 2017; 69(7):547-56. doi: 10.1016/j.etp.2017.03.003.
- Oliveira E, Castro S, Ayupe CM, Ambrósio GE, Souza PV, Macedo CG, Ferreira AP. Obesity affects peripheral lymphoid organs immune response in murine

- asthma model. *Immunology*. 2019; 157(3):268-79. doi: 10.1111/imm.13081.
15. Bandas IA, Kulitska MI, Korda MM. Structural changes of rat liver, kidney and spleen when exposed to silica nanoparticles and lead acetate. *Bulletin of problems of biology and medicine*. 2017; 2(135):322-7.
 16. Gotoh K, Fujiwara K, Anai M, Okamoto M, Masaki T, Kakuma T, Shibata H. Role of spleen-derived IL-10 in prevention of systemic low grade inflammation by obesity. *Endocr J*. 2017; 64:375-8. doi: 10.1507/endocrj.EJ17-0060.
 17. Andersen CJ, Murphy KE, Fernandez ML. Impact of Obesity and Metabolic Syndrome on Immunity. *Adv Nutr*. 2016; 7(1):66-75. doi: 10.3945/an.115.010207.
 18. Beltiukova SV. Determination of monosodium glutamate thin-layer chromatography method with detection fluorescent. *Visnyk ONU. Khimiia*. 2016; 1(57):50-58.
 19. Streich K, Smoczek M, Hegermann J, Dittrich-Breiholz O, Bornemann M, Siebert A, Bleich A, et al. Dietary lipids accumulate in macrophages and stromal cells and change the microarchitecture of mesenteric lymph nodes. *Journal of Advanced Research*. 2020; 24:291-300. doi: 10.1016/j.jare.2020.04.020.
 20. Nitti MD, Hespel GE, Kataru RP, Nores GD, Savetsky IL, Torrisi JS, Mehrara BJ. Obesity induced lymphatic dysfunction is reversible with weight loss. *J Physiol*. 2016; 594(23):7073-87. doi: 10.1113/JP273061.

УДК 616-056.257:611.018.53

ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ СЕЛЕЗЕНКИ В УСЛОВИЯХ ВЛИЯНИЯ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ И ПОСЛЕ ЕГО ОТМЕНЫ

Т.В. Гарапко¹, А.С. Головацкий¹,
Л.Р. Матешук-Вацеба², О.О. Содомора²

¹ГБУЗ "Ужгородский национальный университет",
медицинский факультет, кафедра анатомии человека
и гистологии, г. Ужгород, Украина,

²Львовский национальный медицинский университет
имени Данила Галицкого, кафедра нормальной
анатомии, г. Львов, Украина,
ORCID ID: 0000-0002-9206-9827,
ORCID ID: 0000-0002-9908-5790,
ORCID ID: 0000-0002-3466-5276,
ORCID ID: 0000-0002-3434-5109,
e-mail: garapkotv@gmail.com

Резюме. Актуальность. Глутамат натрия является одной из самых распространенных пищевых добавок в мире.

Цель исследования: изучить морфометрические, гистологические и электронно-микроскопические изменения паренхимы селезенки крыс в условиях воздействия глутамата натрия и после его отмены.

Методы. Микроанатомию структурных компонентов селезенки белых крыс в условиях физиологической нормы исследовали на 10 интактных

животных. Экспериментальные животные разделены на 3 группы.

Результаты. Через восемь недель воздействия глутамата натрия наблюдали достоверное уменьшение относительной площади белой пульпы в паренхиме селезенки белых крыс самцов и самок, макрофагов, плазматических клеток и клеток миелоидного ряда, рост доли ретикулярной соединительной ткани в составе селезеночных тяжей красной пульпы. Эритроциты и тромбоциты заполняют не только просвет пазух селезенки, но и скапливаются в пульпарных тяжах, большое количество лимфоцитов на разных стадиях апоптоза. Рост количества плазматических клеток свидетельствует об ускорении пролиферации активированных лимфоцитов, которое является признаком иммуноиндуцирующего эффекта. Через четыре недели после отмены глутамата натрия гистологическое и электронно-микроскопическое строение органа почти не отличается от предыдущей группы животных. Растет полнокровие сосудов паренхимы селезенки, плотность клеток уменьшается. Растет доля апоптотически измененных клеток.

Выводы. Через восемь недель после отмены глутамата натрия обратных изменений не обнаружено. Таким образом, отмена длительного введения глутамата натрия не «улучшает» морфометрических показателей паренхимы селезенки крыс и не восстанавливает морфологическое строение органа.

Ключевые слова: эксперимент, селезенка, глутамат натрия, белая пульпа, красная пульпа.

UDC 616-056.257:611.018.53

CHANGES IN THE STRUCTURAL ORGANIZATION OF THE SPLEEN UNDER THE INFLUENCE OF MONOSODIUM GLUTAMATE AND AFTER ITS ABOLITION

T.V. Harapko¹, A.S. Holovatskyi¹,
L.R. Mateshuk-Vatseba², O.O. Sodomora²

¹Uzhhorod National University, Medical Faculty,
Department of Human Anatomy and Histology,
Uzhhorod, Ukraine,

²Lviv National Medical University named after
Danylo Halytskyi, Department of Normal Anatomy,
Lviv, Ukraine,
ORCID ID: 0000-0002-9206-9827,
ORCID ID: 0000-0002-9908-5790,
ORCID ID: 0000-0002-3466-5276,
ORCID ID: 0000-0002-3434-5109,
e-mail: garapkotv@gmail.com

Abstract. Relevance. Monosodium glutamate is one of the most common dietary supplements in the world. Monosodium glutamate not only enhances the taste of foods, but also increases appetite, which, in turn, leads to an increase in the amount of food consumed, which contains food additives, closing the circle, which is the basis of high-calorie diet (HCD) used in research.

The aim of the research: to study the morphometric, histological and electron microscopic changes of the parenchyma of the spleen of rats under the influence of monosodium glutamate and after its abolition.

Methods. The research was performed on 52 white male rats and females of reproductive age (2.5-6.5 months) weighing 120-300 g. The microanatomy of the spleen under physiological norms was studied in 10 intact animals. The experimental animals were divided into 3 groups: the first group (10 animals), which were fed HCD for eight weeks; the second group (10 animals), which were fed HCD for eight weeks, and then transferred to the standard diet of vivarium for 4 weeks; the third group (10 animals), which were fed HCD for eight weeks, and then transferred to the standard diet of vivarium for 8 weeks. There were 5 male rats and 5 female rats in each group. HCD was achieved by adding sodium glutamate to food at a dose of 0.07 g / kg body weight of rats. Statistical processing of digital data was performed using «Excel» software and «STATISTICA» 6.0 using the parametric method.

Results. After eight weeks of influence of monosodium glutamate, a significant decrease in the relative area of white pulp in the parenchyma of the spleen of white rats of males and females, an increase in secondary lymphoid nodules, an increase in monocytes, macrophages, plasma cells and myeloid cells, an increase in the share of reticular connective tissue in the splenic cords it was found. Erythrocytes and thrombocytes not only fill the lumen of the sinuses of the spleen, but also accumulate in the pulpal cords a large number of lymphocytes at different stages of apoptosis. The lumen of the venous sinuses of the

red pulp is full-blooded, dilated and slightly deformed. There are signs of edema around the vessels and venous sinuses. An increase in the number of plasma cells indicates an acceleration of the proliferation of activated lymphocytes, which is a sign of the immunoinductive effect. After four weeks of cancellation of monosodium glutamate, the histological and electron microscopic structure of the organ is almost indistinguishable from the previous group. The plethora of the spleen increases, the cell density decreases. The proportion of apoptically altered cells increases.

Even 8 weeks after discontinuation of monosodium glutamate, no reversible changes in the structure of the splenic parenchyma were detected. Lymphoid tissue is depleted, which is manifested by a decrease in the relative area of the white pulp, a decrease in the density of lymphoid cells, an increase in the proportion of apoptically altered lymphocytes and plasma cells. The area of lymphoid nodules and the size of their reproductive centers are reduced. Apoptosis of cells leads to the formation of areas of destruction.

Conclusions. After eight weeks of cancellation of influence of monosodium glutamate of return changes in structure of a parenchyma of a spleen are not revealed. Thus, the abolition of long-term use of monosodium glutamate does not «improve» the morphometric parameters of the parenchyma of the rat spleen and does not restore the morphological structure of the organ.

Keywords: experiment, spleen, monosodium glutamate, white pulp, red pulp.

Стаття надійшла в редакцію 18.01.2021 р.