

© Морозов В.Н., Новик Е.С., 2024
УДК: 664:616.718.5-036.864

В.Н. Морозов, Е.С. Новик ОРГАНОМЕТРИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ БОЛЬШЕБЕРЦОВОЙ КОСТИ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ В НЕЙ РЕГЕНЕРАТА ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТАРТРАЗИНА

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, г. Белгород, РФ

Цель исследования - установить особенности изменений органомерических параметров большеберцовой кости при течении в ней процесса заживления дырчатого дефекта после 60-суточного воздействия тартразина. **Материал и методы.** Исследование проведено на 60 белых беспородных половозрелых самцах-крысах массой 200-210 г, разделенных на две группы. Контрольная группа ежедневно в течение 60 суток внутрижелудочно получала 1 мл 0,9% изотонического раствора натрия хлорида. На 61-е сутки животным моделировали перелом проксимального отдела диафиза большеберцовых костей путем его сквозной перфорации. Животные экспериментальной группы подвергались ежедневному 60-суточному внутрижелудочному воздействию тартразина в дозе 1500 мг/кг/массы тела и последующей перфорации большеберцовой кости. При помощи электронного штангенциркуля измеряли максимальную длину, линейные размеры эпифизов и диафиза большеберцовой кости, а также рассчитывали индекс робустности на 64, 71, 76, 85 и 106 сутки эксперимента. Результаты замеров большеберцовой кости вносили в лицензионную компьютерную программу JASP с целью проведения описательной статистики, проверки типа распределения данных (тест Шапиро-Уилка) и определения статистической значимости отличий между параметрами экспериментальной и контрольной групп (тест Манна-Уитни). Порог доверительного интервала для значений - не менее 95%. **Результаты.** В экспериментальной группе абсолютная масса большеберцовой кости была значимо меньше данных контрольной группы на 64, 71, 76, 85, 106 сутки эксперимента на 9,28%, 9,77%, 10,18%, 10,34%, 10,58%, максимальная длина - на 6,86%, 8,78%, 9,41%, 7,70%, 5,28%, ширина и толщина диафиза - на 8,42% и 10,47%, 14,29% и 11,74%, 10,90% и 11,75%, 10,28% и 11,64%, 8,37% и 6,37%, ширина проксимального эпифиза - на 6,75%, 7,10%, 8,32%, 5,31%, 4,23%, ширина дистального эпифиза - на 64, 71 сутки на 5,26%, 4,80%, а индекс робустности - на 64, 71, 85 сутки на 3,79%, 5,59%, 6,07%. **Заключение.** Шестидесятисуточный цикл воздействия тартразина в дозе 1500 мг/кг/сутки сопровождается угнетением темпов продольного, апозиционного роста большеберцовой кости, а также набора ее массы в различные сроки формирования в ней регенерата. Максимальные по выраженности изменения регистрируются в фазу дифференцировки клеток, формирования тканеспецифических структур (10 сутки после операции), а также в фазу их реорганизации и минерализации (15 сутки после операции).

Ключевые слова: большеберцовая кость, дефект, тартразин, линейные размеры.

Поступила в редакцию 28.06.2024. Принята к печати 01.11.2024.

Для цитирования: Морозов В.Н., Новик Е.С. Органомерические параметры большеберцовой кости при формировании в ней регенерата после воздействия тартразина. Морфологический альманах имени В.Г. Ковешникова. 2024;22(4):71-6.

Для корреспонденции: Морозов Виталий Николаевич - кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры анатомии и гистологии человека, Медицинский институт ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (308036, РФ, г. Белгород, ул. Губкина, 50). ORCID: 0000-0002-1169-4285.
e-mail: morozov_v@bsu.edu.ru

Morozov V.N., Novik E.S. ORGANOMETRIC PARAMETERS OF THE TIBIA DURING THE FORMATION OF REGENERATE IN IT AFTER EXPOSURE TO TARTRAZINE

¹Belgorod State National Research University, Belgorod, Russian Federation

The aim of the study - to establish the features of changes in the organometric parameters of the tibia during the healing process of a perforated defect after 60-day exposure to tartrazine. **Material and methods.** The study was carried out on 60 white mature male rats weighing 200-210 g. divided into

two groups. The control group received 1 ml of saline solution intragastrically daily for 60 days. The animals underwent a fracture of the proximal tibial diaphysis by means of its through perforation on day 61. The animals of the experimental group were exposed to daily 60-day intragastric exposure to tartrazine at a dose of 1500 mg/kg/body weight and subsequent tibial perforation. Using an electronic caliper, the maximum length and linear dimensions of the epiphyses and diaphysis of the tibia were measured, and the robustness index was calculated on days 64, 71, 76, 85, and 106 of the experiment. The results of measurements of the tibia were entered into the JASP licensed computer program in order to do descriptive statistics, verify the type of data distribution (Shapiro-Wilk test) and determine the statistical significance of differences between the parameters of the experimental and control groups (Mann-Whitney test). The confidence interval for the values is at least 95%. **Results.** In the experimental group, the absolute mass of the tibia was significantly less than that of the control group on days 64, 71, 76, 85, 106 of the experiment by 9,28%, 9,77%, 10,18%, 10,34%, 10,58%, the maximum length - by 6,86%, 8,78%, 9,41%, 7,70%, 5,28%, the width and thickness of the diaphysis - by 8,42% and 10,47%, 14,29% and 11,74%, 10,90% and 11,75%, 10,28% and 11,64%, 8,37% and 6,37%, the width of the proximal epiphysis - by 6,75%, 7,10%, 8,32%, 5,31%, 4,23%, the width of the distal epiphysis - by 5,26%, 4,80% on days 64, 71 days and the robustness index - by 3,79%, 5,59%, 6,07% on days 64, 71, 85. **Conclusion.** A sixty-day cycle of exposure to tartrazine at a dose of 1500 mg/kg is accompanied by an inhibition of the rate of longitudinal, appositional growth of the tibia, as well as its weight gain at various times of regenerate formation in it. The maximum changes are recorded in the phase of cell differentiation, formation of tissue-specific structures (10 days after surgery), as well as in the phase of their reorganization and mineralization (15 days after surgery).

Key words: tibia, defect, tartrazine, linear dimensions.

Received: 28.06.2024. Accepted: 01.11.2024.

For citation: Morozov VN, Novik ES. Organometric parameters of the tibia during the formation of regenerate in it after exposure to tartrazine. V.G. Koveshnikov Morphological Almanac. 2024;22(4):71-6.

Corresponding author: Vitaliy N. Morozov - PhD in medicine, associate professor, associate professor of the Department of Human anatomy and Histology, Medical Institute, FSAEI HE «Belgorod National Research University», 308036, Russian Federation, Belgorod, Gubkina Str., 50. ORCID: 0000-0002-1169-4285. e-mail: morozov_v@bsu.edu.ru

Введение. Одним из классов пищевых добавок, широко применяющихся в пищевой промышленности и фармацевтической отрасли, являются пищевые красители. Среди них выделяется группа азокрасителей из-за высокой эффективности в придании интенсивного стойкого цвета продукту и низкой стоимости. Одним из представителей азокрасителей является тартразин (E102), свойства которого нашли применение в производстве газированных напитков, кондитерских изделий, приправ, оболочек лекарственных препаратов [1].

Перелом длинной трубчатой кости является одним из наиболее распространенных повреждений опорно-двигательного аппарата. Переломы большеберцовой кости имеют высокую частоту осложнений, таких как нарушение сращения, ассоциированные инфекции, что может приводить к длительной потере трудоспособности человека и социально-экономическим последствиям [2].

Вызывают опасения описанные в литературе токсические эффекты воздействия тартразина: гепатотоксичность, нефро- и гонадотоксичность, которые связывают с его генотоксичностью и инициацией выработки активных форм кислорода [3]. Имеются сведения и о неблагоприятном влиянии длительного воздействия тартразина на морфогенез скелета: зоны продольного и аппозиционного роста костей, химический состав, прочность [4-7]. Остаются не освещенными вопросы, связанные с морфогенезом длинных трубчатых костей после длительного влияния тартразина при течении процесса репаративного остеогенеза в них.

Цель исследования. Установить особенности изменений органометрических параметров большеберцовой кости при течении в ней процесса заживления дырчатого дефекта после 60-суточного воздействия тартразина.

Материал и методы исследования. Исследование проведено на 60 белых беспо-

родных половозрелых самцах-крысах массой 200-210 г. Из первых 30 особей была сформирована контрольная группа, которая ежедневно 60 суток внутрижелудочно получала 1 мл 0,9% изотонического раствора натрия хлорида. На 61-е сутки животным моделировали перелом проксимального отдела диафиза большеберцовых костей путем его сквозной перфорации [8]. Животных выводили из эксперимента путем передозировки наркоза диэтилового эфира на 64, 71, 76, 85 и 106 сутки после операции, что по срокам соответствует ключевым стадиям остеорепарации по Коржу Н.А., Дедух Н.В. (2006) [9]. Из следующих 30 крыс эквивалентно по объему контрольной выборки сформирована экспериментальная группа, в которых животные подвергались ежедневному 60-суточному внутрижелудочному воздействию тартразина (производитель Roha Dychem Pvt Ltd, India) в дозе 1500 мг/кг/массы тела. Экспериментальные процедуры с лабораторными животными осуществлялись в соответствии с установленными регламентами [10]. Большеберцовые кости подвергались скелетированию и макроскопическому изучению. Абсолютную массу определяли на торсионных весах WT-1000, а линейные размеры ее эпифизов и диафиза – при помощи электронного штангенциркуля Зубр ШЦЦ-I-150-0,01. Также рассчитывали индекс робустности (Simon) – отношение длины кости к кубическому корню массы. Дан-

ный показатель характеризует темпы продольного роста кости по отношению к приросту ее массы. Результаты замеров большеберцовой кости вносили в лицензионную компьютерную программу JASP («The JASP Team», Amsterdam). Использовали функцию «Описательная статистика» для расчета среднего значения каждого параметра и стандартной ошибки, а также критерий Шапиро-Уилка для проверки типа распределения первичных данных [11]. Применяли функцию программы «Классический анализ. Т-тест для независимых выборок (Манна-Уитни)» для сравнения данных контрольной группы и экспериментальной группы. Порог доверительного интервала для значений установлен на уровне не менее 95%.

Результаты. В контрольной группе и экспериментальной группе в фазу воспаления (3 сутки после операции или 64 сутки эксперимента) абсолютная масса большеберцовой кости составляла $512,86 \pm 6,31$ и $465,29 \pm 7,12$ мг (-9,28%, $p=0,001$), максимальная длина – $38,73 \pm 0,41$ и $36,07 \pm 0,29$ мм (-6,86%, $p<0,001$), ширина проксимального эпифиза – $6,99 \pm 0,07$ и $6,51 \pm 0,08$ мм (-6,75%, $p=0,006$), ширина диафиза – $2,89 \pm 0,03$ и $2,64 \pm 0,04$ мм (-8,42%, $p=0,003$), толщина диафиза – $3,69 \pm 0,06$ и $3,30 \pm 0,05$ мм (-10,47%, $p=0,003$), ширина дистального эпифиза – $5,70 \pm 0,08$ и $5,40 \pm 0,05$ мм (-5,26%, $p=0,020$), индекс робустности – $4,84 \pm 0,06$ и $4,66 \pm 0,04$ у.е. (-3,79%, $p=0,026$) (Рисунок 1).

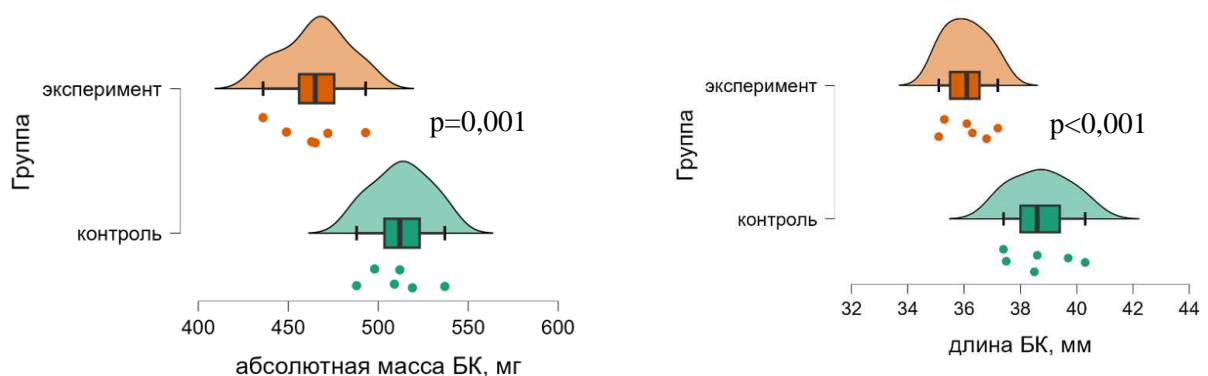


Рисунок 1 - Диаграммы изменений абсолютной массы и длины большеберцовой кости в контрольной и экспериментальной группах на 64 сутки эксперимента

В контрольной группе и экспериментальной группе в фазу дифференцировки клеток и формирования тканеспецифических структур (10 сутки после операции или

71 сутки эксперимента) абсолютная масса большеберцовой кости составляла $508,72 \pm 5,69$ и $459,00 \pm 7,7$ мг (-9,77%, $p=0,002$), максимальная длина – $39,70 \pm 0,34$

и $36,21 \pm 0,33$ мм (-8,78%, $p=0,002$), ширина проксимального эпифиза – $7,04 \pm 0,09$ и $6,54 \pm 0,10$ мм (-7,10%, $p=0,009$), ширина диафиза – $3,10 \pm 0,12$ и $2,66 \pm 0,04$ мм (-14,29%, $p=0,002$), толщина диафиза –

$3,77 \pm 0,06$ и $3,33 \pm 0,04$ мм (-11,74%, $p=0,002$), ширина дистального эпифиза – $5,66 \pm 0,07$ и $5,39 \pm 0,09$ мм (-4,80%, $p=0,046$), индекс робустности – $4,97 \pm 0,04$ и $4,70 \pm 0,02$ у.е. (-5,59%, $p<0,001$) (Рисунок 2).

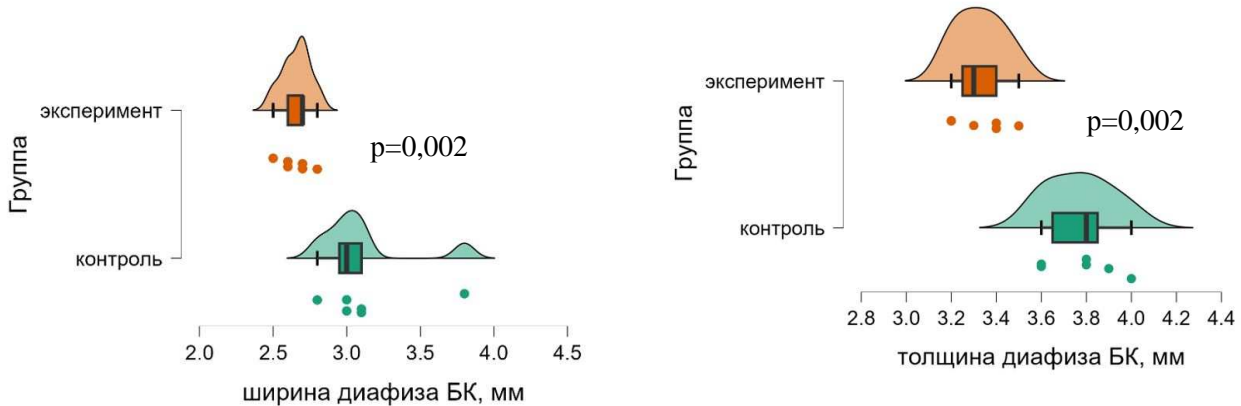


Рисунок 2 - Диаграммы изменений ширины и толщины диафиза большеберцовой кости в контрольной и экспериментальной группах на 71 сутки эксперимента

В контрольной группе и экспериментальной группе в фазу реорганизации тканевых структур и минерализации (15 сутки после операции или 76 сутки эксперимента) абсолютная масса большеберцовой кости составляла $513,71 \pm 8,32$ и $461,43 \pm 10,77$ мг (-10,18%, $p=0,002$), максимальная длина – $40,07 \pm 0,32$ и $36,30 \pm 0,29$ мм (-9,41%, $p<0,001$), ширина проксимального эпифиза –

$7,04 \pm 0,09$ и $6,46 \pm 0,14$ мм (-8,32%, $p=0,005$), ширина диафиза – $3,01 \pm 0,06$ и $2,69 \pm 0,03$ мм (-10,90%, $p=0,003$), толщина диафиза – $3,86 \pm 0,05$ и $3,40 \pm 0,05$ мм (-11,75%, $p=0,002$), ширина дистального эпифиза – $5,64 \pm 0,08$ и $5,41 \pm 0,07$ мм (-4,05%, $p=0,053$), индекс робустности – $5,00 \pm 0,04$ и $4,70 \pm 0,05$ у.е. (-6,07%, $p<0,001$) (Рисунок 3).

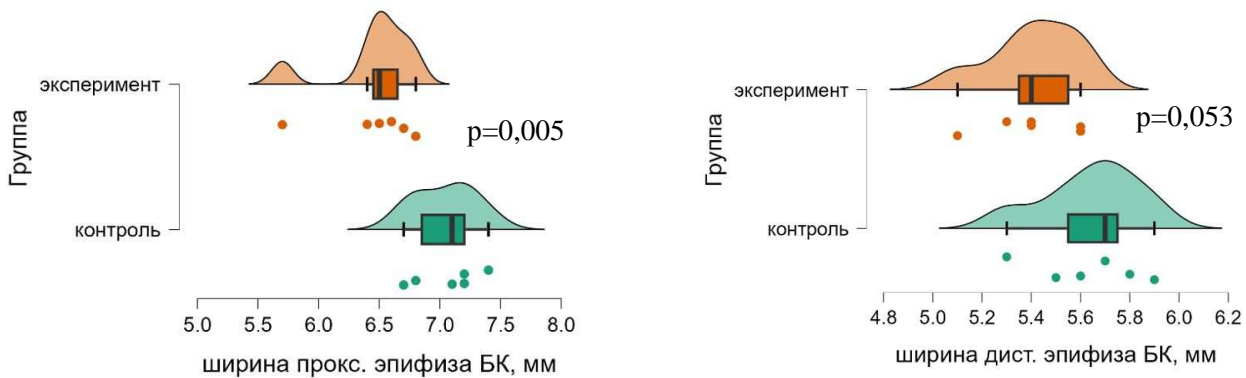


Рисунок 3 - Диаграммы изменений ширины проксимального и дистального эпифизов большеберцовой кости в контрольной и экспериментальной группах на 76 сутки эксперимента

В контрольной группе и экспериментальной группе в фазу ремоделирования (24 сутки после операции или 85 сутки эксперимента) абсолютная масса большеберцовой кости составляла $515,29 \pm 7,24$ и $462,00 \pm 7,91$ мг (-10,34%, $p=0,001$), максимальная длина – $40,06 \pm 0,42$ и $36,97 \pm 0,28$ мм (-7,70%, $p=0,002$), ширина проксимального эпифиза – $7,00 \pm 0,08$ и $6,63 \pm 0,09$ мм (-5,31%,

$p=0,018$), ширина диафиза – $3,06 \pm 0,04$ и $2,74 \pm 0,05$ мм (-10,28%, $p=0,003$), толщина диафиза – $3,93 \pm 0,06$ и $3,47 \pm 0,05$ мм (-11,64%, $p=0,002$), ширина дистального эпифиза – $5,66 \pm 0,07$ и $5,47 \pm 0,08$ мм (-3,28%, $p=0,119$), индекс робустности – $5,00 \pm 0,06$ и $4,78 \pm 0,04$ у.е. (-4,28%, $p=0,053$).

В контрольной группе и экспериментальной группе в фазу исхода (45 сутки по-

сле операции или 106 сутки эксперимента) абсолютная масса большеберцовой кости составляла $534,86 \pm 7,96$ и $478,29 \pm 6,13$ мг (-10,58%, $p=0,001$), максимальная длина – $40,04 \pm 0,54$ и $37,93 \pm 0,29$ мм (-5,28%, $p=0,009$), ширина проксимального эпифиза – $7,10 \pm 0,05$ и $6,80 \pm 0,07$ мм (-4,23%,

$p=0,011$), ширина диафиза – $3,07 \pm 0,04$ и $2,81 \pm 0,04$ мм (-8,37%, $p=0,005$), толщина диафиза – $3,81 \pm 0,05$ и $3,57 \pm 0,05$ мм (-6,37%, $p=0,014$), ширина дистального эпифиза – $5,76 \pm 0,07$ и $5,54 \pm 0,06$ мм (-3,72%, $p=0,070$), индекс робустности – $4,93 \pm 0,06$ и $4,85 \pm 0,04$ у.е. (-1,68%, $p=0,456$) (Рисунок 4).

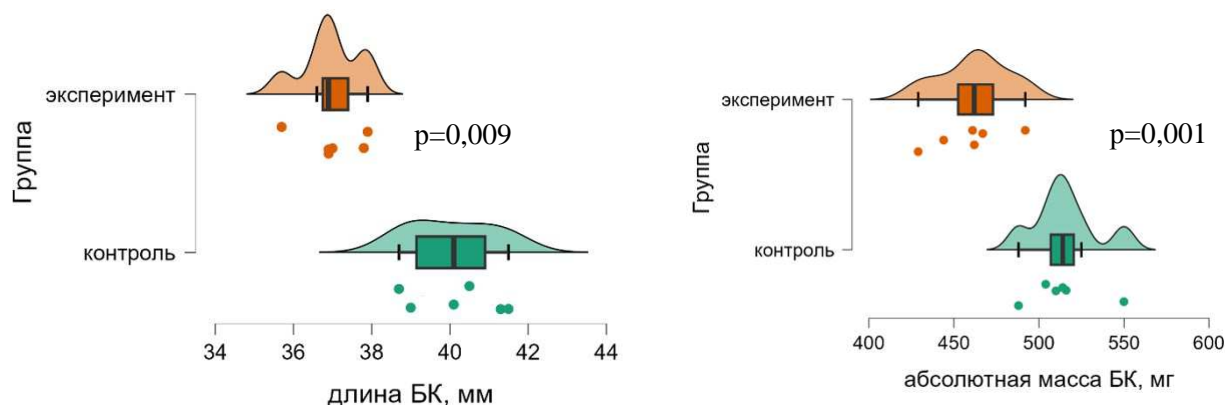


Рисунок 4 - Диаграммы изменений длины большеберцовой кости (85 сутки эксперимента) и абсолютной массы (106 сутки эксперимента) в контрольной и экспериментальной группах

Обсуждение. Во все сроки репаративного остеогенеза указанные выше изменения органомерических параметров большеберцовой кости в экспериментальной группе указывают на замедление продольного и оппозиционного роста, а также набора массы костным органом. При этом максимальные по выраженности изменения регистрировались в фазу дифференцировки клеток, формирования тканеспецифических структур, а также в фазу их реорганизации и минерализации. Особенно это касалось таких параметров, как максимальная длина кости, ширина и толщина диафиза. Это может быть обусловлено непосредственной близостью к месту нанесения дырчатого дефекта проксимального метаэпифизарного хряща, обуславливающего продольный рост кости, а также близостью проксимального отдела диафиза, где проводили замеры его ширины и толщины. В фазу remodelирования и фазу исхода амплитуда отличий параметров от контроля уменьшалась, но все также регистрировались их значимые изменения в экспериментальной группе.

Эффекты тартразина на процесс роста кости при течении репаративного остеогенеза в ней могут объясняться его способно-

стью вызывать нарушение баланса в оксидантно-антиоксидантной системе за счет инициации выработки его метаболитами активных форм кислорода, которые оказывают повреждающее воздействие на генетический материал клеток, липидные слои мембран, а также его комплексообразующими свойствами при расщеплении в кишечнике (связывание цинка) [12, 13].

Заключение. Шестидесятисуточный цикл воздействия тартразина в дозе 1500 мг/кг/сутки сопровождается угнетением темпов продольного, оппозиционного роста большеберцовой кости, а также набора ее массы в различные сроки формирования в ней регенерата. Максимальные по выраженности изменения регистрируются в фазу дифференцировки клеток, формирования тканеспецифических структур (10 сутки), а также в фазу их реорганизации и минерализации (15 сутки).

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Автор заявляет о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Barciela P, Perez-Vazquez A, Prieto MA. Azo dyes in the food industry: Features, classification, toxicity, alternatives, and regulation. *Food Chem Toxicol.* 2023;178:113935. doi: 10.1016/j.fct.2023.113935
2. Fan Y, Leape CP, Hugard S, McCanne M, Thomson A, Wojtkiewicz GR, Weaver MJ, Collins JE, Randolph M, Oral E. A longitudinal rat model for assessing postoperative recovery and bone healing following tibial osteotomy and plate fixation. *BMC Musculoskelet Disord.* 2023;24(1):854. doi: 10.1186/s12891-023-06942-5
3. Amchova P, Siska F, Ruda-Kucerova J. Safety of tartrazine in the food industry and potential protective factors. *Heliyon.* 2024;10(18):e38111. doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e38111
4. Öztürk O, Dikici Y, Gür Ö, Ocak M, Doğanıyğit Z, Okan A, Arıkan Söylemez ES, Ateş Ş, Uçar S, Unal M, Yılmaz S. Evaluation of the effect of tartrazine on the offspring rats in an in vivo experimental model. *Food Sci Nutr.* 2024;12(11):9162-9174. doi: 10.1002/fsn3.4485
5. Бибик В.В., Лузин В.И., Савенко Л.Д. Макроэлементный состав нижней челюсти у белых крыс при нанесении дефекта в большеберцовой кости после 60-суточного введения тартразина и возможности его коррекции. *Морфологический альманах имени В.Г. Ковешникова.* 2023;21(4):3-10. [Bibik VV, Luzin VI, Savenko LD. Macroelement composition of the mandible in white rats with the tibial defect after 60-day administration of tartrazine and the possibilities of its correction. *V.G. Koveshnikov Morphological Almanac.* 2023;21(4):3-10. (in Russ.)]
6. Бибик В.В., Лузин В.И., Савенко Л.Д. Влияние 60-суточного введения натрия бензоата либо тартразина на рост и формообразование нижней челюсти у белых крыс и некоторые возможности их коррекции. *Проблемы экологической и медицинской генетики и клинической иммунологии.* 2022;5(173):22-30. [Bibik VV, Luzin VI, Savenko LD. The effect of 60-day administration of sodium benzoate or tartrazine on the growth and shaping of the mandible in white rats and some possibilities for their correction. *Problemy ekologicheskoy i meditsinskoj genetiki i klinicheskoy immunologii.* 2022;5(173):22-30. (in Russ.)]
7. Лузин В.И., Фастова О.Н., Морозов В.Н., Морозова Е.Н., Заболотная С.В. Гистологическое строение проксимального метафизарного хряща плечевой кости у крыс после шестидесятидневного введения тартразина. *Ульяновский медико-биологический журнал.* 2020;1:150-157. [Luzin VI, Fastova ON, Morozov VN, Morozova EN, Zabolotnaya SV. Histological structure of proximal metaphyseal cartilage of humerus in rats after 60-day tartrazine administration. *Ulyanovsk Medico-Biological Journal.* 2020;1:150-157. (in Russ.)] doi: 10.34014/2227-1848-2020-1-150-157
8. Лузин В.И., Ивченко Д.В., Панкратьев А.А. Методика моделирования костного дефекта у лабораторных животных. *Український медичний альманах.* 2005;8(2):162. [Luzin VI, Ivchenko DV, Pankrat'ev AA. Metodika modelirovaniya kostnogo defekta u laboratornyh zhyvotnyh. *Ukrains'kij medichnij al'manah.* 2005;8(2):162. (in Russ.)]
9. Корж Н.А., Дедух Н.В. Репаративная регенерация кости: современный взгляд на проблему. Стадии регенерации. *Ортопедия, травматология и протезирование.* 2006;1:76-84. [Korzh NA, Deduh NV. Reparative bone regeneration: a modern view of the problem. Stages of regeneration. *Ortopediya, Travmatologiya i Protezirovaniye.* 2006;1:76-84. (In Russ.)]
10. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union on the protection of animals used for scientific purposes, complying with the requirements of the European Economic Area. St. Petersburg, 2012.
11. Goss-Sampson MA. Statistical analyses in JASP. A guide for students. 5th Edition JASP v0.16.1 2022.
12. El-Desoky GE, Abdel-Ghaffar A, Al-Othman ZA, Habila MA, Al-Sheikh YA, Ghneim HK, Giesy JP, Aboul-Soud MA. Curcumin protects against tartrazine-mediated oxidative stress and hepatotoxicity in male rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017;21(3):635-645.
13. Visweswaran B, Krishnamoorthy G. Oxidative stress by tartrazine in the testis of Wistar rats. *Journal of Pharmacy and Biological sciences.* 2012;2(3):44-49. doi: 10.9790/3008-0234447