

І.В. Лещенко, В.Г. Шевчук, Т.М.Фалалєєва, Т.В. Берегова

Вплив тривалого введення глутамату натрію на структуру підшлункової залози щурів

*Вивчали вплив тривалого введення глутамату натрію на підшлункову залозу у щурів. Встановлено, що 30-добове введення в дозах 15 і 30 мг/кг (відповідає 1 і 2 г/людину) викликає некротичні, некробіотичні та дистрофічні зміни екзо- і ендокриноцитів, лейкоцитарну і лімфоїдну інфільтрацію, периваскулярний і інтерстиціальний фіброз, набряк та дисциркуляторні розлади. Слід відмітити збільшення площі поперечного перерізу ядер ендокриноцитів та екзокриноцитів, що свідчить про інтенсифікацію синтетичних процесів у клітинах підшлункової залози, а також зменшення площі поперечного перерізу екзокринних клітин підшлункової залози, що є ознакою стимуляції секреторних процесів у екзокринних клітинах. Описані зміни є характерними для гострого панкреатиту. Зроблено висновок, що максимальні добові дози харчових добавок, що містять глутамінову кислоту та її солі, мають бути переглянуті, враховуючи їх несприятливий вплив на підшлункову залозу.
Ключові слова: глутамат натрію, підшлункова залоза, панкреатит.*

ВСТУП

У 1907 р. професор Токійського імперського університету Кікунае Ікеда вперше виділив глутамат натрію за допомогою гідролізу пшеничного білка і виявив його здатність підсилювати природні смакові якості їжі, які втрачаються при обробці й зберіганні. З тих пір глутамат натрію (Е621) використовується в більшості сучасних харчових технологій як харчова добавка, підсилює смак і аромат. Сумніви, що стосуються безпеки споживання харчової добавки глутамату натрію, почалися в 1968 р. після публікацій в англійському медичному журналі даних про те, що натрієва сіль глутамінової кислоти може бути причиною багатьох хвороб [10, 15, 17, 18]. Ці захворювання були об'єднані терміном "синдром китайського ресторану", симптомами якого є різкий біль у шлунку, грудях або голові, почервоніння обличчя, підвищена температура тіла, посилення потовиділення [7, 12]. Проведено велику кількість дослі-

джень у багатьох країнах як на здорових добровольцях, так і на людях, які себе вважають чутливими до глутамату натрію [11]. Однак єдиної думки щодо безпечної дози немає [7, 18].

У Україні тільки у 2000 р. після постанови Кабміну № 342 від 17 лютого глутамат натрію внесли до переліку дозволених в Україні харчових добавок. За останні 10 років зростає захворюваність населення хворобами шлунково-кишкового тракту. Нині в Україні 40 % дорослого населення і 10 % дитячого мають проблеми з травленням [5].

У наші дні характер харчування населення викликає серйозну стурбованість: все зростає споживання продуктів «fast food», що супроводжується зниженням частки в денному раціоні овочів, фруктів, молочних і кисломолочних продуктів може позначитися на стані здоров'я.

Встановлено, що прийом харчової добавки глутамату натрію в кількості 3 г на добу може викликати ознаки «синдрому

© І.В. Лещенко, В.Г. Шевчук, Т.М.Фалалєєва, Т.В. Берегова

китайського ресторану» [19]. Однак раніше нами було показано, що щоденне введення глютаму натрію щурам у дозах 15 і 30 мг/кг, які відповідають 1 і 2 г на середньостатистичну людину (безпечні для здоров'я людини дози), впродовж 20 і 30 діб призвело до збільшення маси тіла тварин, секреції соляної кислоти та ураження слизової оболонки шлунка, що проявлялося у розвитку крововиливів, ерозій і виразок [6]. Оскільки в ендо- і екзокринній частині підшлункової залози щурів знайдені для L-глютаму везикулярні транспортери першого та другого типу та іонотропні і метаболічні рецептори [14, 15], то метою нашої роботи було дослідити вплив тривалого введення глютаму (10, 20 і 30 діб) на морфологію підшлункової залози щурів.

МЕТОДИКА

Дослідження проведені на 63 щурах з дотриманням нормативів Конвенції з біоетики Ради Європи 1997 р., Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, загальним етичним принципам експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 р.), інших міжнародних угод та національного законодавства у цій галузі [3, 4]. Тварин утримували в умовах акредитованого віварію згідно зі «Стандартними правилами з упорядкування, устаткування та утримання експериментальних біологічних клінік (віваріїв)». Прилади, що використовувалися для наукових досліджень, підлягали метрологічному контролю.

За добу до проведення експерименту тварин, яких було розділено на три групи, піддавали харчовій депривації з вільним доступом до води. Тваринам I групи протягом 10, 20 та 30 діб ми вводили 0,5 мл води (per os, один раз на день). Тварини II і III груп упродовж цього самого терміну

отримували 15 і 30 мг/кг глютаму натрію (0,5 мл per os, один раз на день) відповідно. Через 10, 20 та 30 діб у щурів усіх груп були проведені гістологічні та морфометричні дослідження тканини підшлункової залози. Тварин умертвляли летальною дозою уретану (3 г/кг, внутрішньоочеревино) [8]. Після чого видаляли підшлункову залозу та фіксували у 10%-му нейтральному формаліні протягом 1-2 діб. Далі препарат піддавали зневодненню у розчинах етилового спирту зростаючих концентрацій (70, 80, 90, 96 % – по одній добі у кожному розчині), просвітленню у діоксані (0,5–2 год) та хлороформі (1 год), просочуванню сумішшю парафіну з хлороформом 1:1 (до 2 год при +37°C) та чистим парафіном (2 год при +56°C), після чого заливали у чистий розплавлений парафін. Парафінові зрізи шлунка завтовшки до 5 мкм виготовляли на санному мікроскопі, фарбували гематоксиліном з дофарбуванням еозином [2].

Гістологічні препарати аналізували при збільшенні мікроскопа у 100, 400 і 1500 разів. Кольорові мікрофотографії отримували за допомогою цифрової фотокамери Olympus C-5050 Zoom і мікроскопа Olympus BX-41 («Olympus Europe GmbH», Японія).

На знімках, отриманих зі збільшенням у 1500 разів вимірювали площу поперечного перерізу ядер ендо- і екзокринних клітин підшлункової залози, площу поперечного перерізу екзокринних клітин підшлункової залози і відстань між часточками підшлункової залози за допомогою безкоштовного програмного забезпечення UTHSCSA ImageTool, яке було розроблено у Техаському державному університеті, Сан-Антоніо, штат Техас, у 1995–2002 рр. і доступне в Інтернеті (<ftp://maxrad6.uthscsa.edu>).

Наші результати згідно з тестом Шапіро-Вілкса були розподілені нормально і представлені у вигляді $M \pm SD$. Статистичне порівняння між групами проводили з використанням критерію t Стьюдента для нез'язаних вибірок. Статистична значимість була встановлена на рівні $P < 0,05$ [1].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У щурів контрольної групи підшлункова залоза щурів мала типову будову. Ациноси екзокринної її частини були нормальної будови, ациноцити мали конічну форму та виражену полярність – апікальну (зимогенну) та базальну (гомогенну) зони. У базальній частині ациноцитів розміщені ядра з чітко окресленими ядерцями (рис 1). Площа поперечного перерізу ациносів становила $1243,1 \text{ мкм}^2 \pm 17,7 \text{ мкм}^2$, ядер ациноцитів – $19,6 \text{ мкм}^2 \pm 1,4 \text{ мкм}^2$, а відстань між часточками підшлункової залози – $17,6 \text{ мкм} \pm 1,7 \text{ мкм}$ (таблиця). Ендокринна частина представлена острівцями Лангерганса різної форми та розмірів, острівці відокремлені від ациносів сполучною тканиною та складаються з інсуліноцитів між якими розміщена пухка волокниста сполучна тканина з гемокapілярами. Площа поперечного перерізу ядер ендокриноцитів острівців Лангерганса становила $20,5 \text{ мкм}^2 \pm 1,6 \text{ мкм}^2$ (див. таблицю).

У підшлунковій залозі щурів, що отримували глутамат натрію протягом 10 діб у дозі 15 мг/кг, виявлені дистрофічні зміни екзокриноцитів і повнокров'я судин (рис. 2,а). У щурів, які отримували 30 мг/кг харчової добавки спостерігалися стази в просвіті судин (див. рис. 2,б).

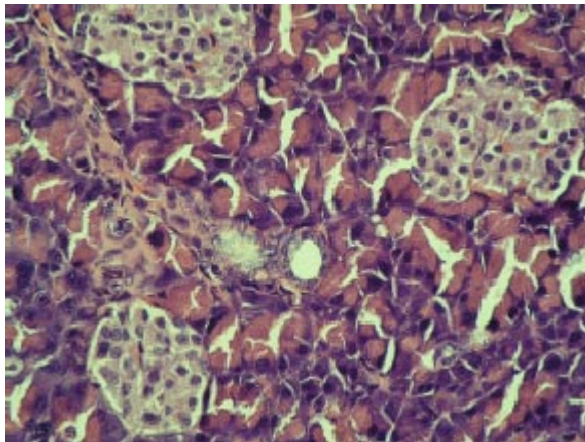
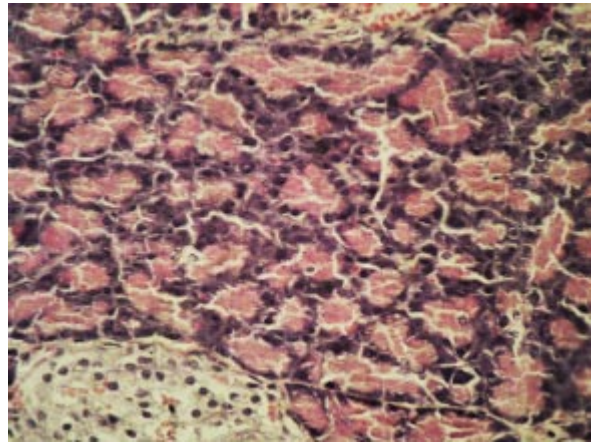


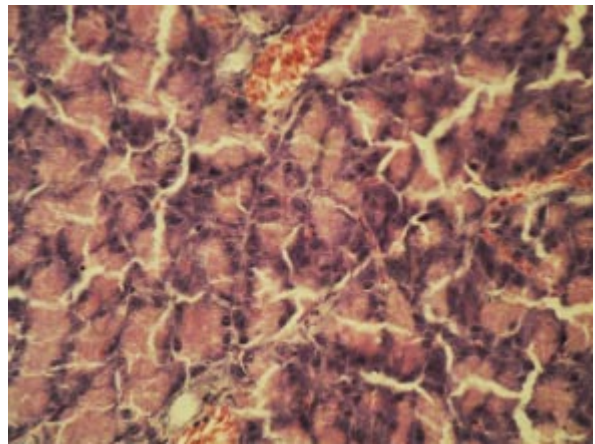
Рис. 1. Мікрофотографія підшлункової залози контрольної групи щурів, х400

Введення глутамату натрію протягом 20 діб в дозі 15 мг/кг викликало в тканині підшлункової залози некробіотичні зміни екзокриноцитів, помірний периваскулярний фіброз і лімфоїдну інфільтрацію. Збільшення дози харчової добавки вдвічі справляло значно сильніший вплив. Спостерігалися виражені некробіотичні і некротичні зміни екзокриноцитів, дистрофічні зміни ендокриноцитів і стаз у просвіті судин ендокринної частини. Введення протягом 10 та 20 діб глутамату натрію вірогідно не змінювало морфометричні показники підшлункової залози.

У разі подовження введення глутамату натрію (15 мг/кг) до 30 діб ступінь ураженості тканини підшлункової залози ще



а



б

Рис. 2. Мікрофотографії підшлункової залози щурів, котрим упродовж 10 діб вводили глутамат натрію: а – 15 мг/кг, б – 30 мг/кг, х400

Вплив 30 добового введення глютаму натрію на морфометричні показники підшлункової залози у щурів (M±SD; n = 10)

Показник	Контроль	Глютама́т натрію	
		15 мг/кг	30 мг/кг
Площа поперечного перерізу, мкм ²			
ядер ендокриноцитів	20,5±1,6	23,5±1,4*	23,7±1,5*
ядер екзокриноцитів	19,6±1,4	21,6±1,6*	22,3±1,5*,**
ацинусів	1243,1±17,7	1170,2±27,3**	1169,9±25,0*
Відстань між часточками підшлункової залози, мкм	17,6±1,7	33,6±1,6*	33,3±1,6*

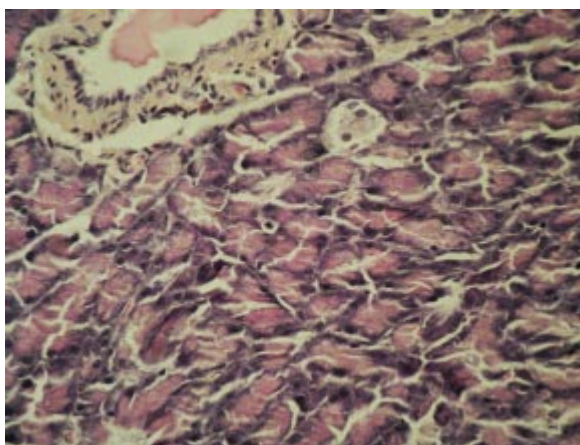
* P<0,001 у порівнянні з контролем, ** P<0,001 у порівнянні з глютамом натрію в дозі 15 мг/кг

збільшилася: були наявні некротичні, некробіотичні та дистрофічні зміни екзо- і ендокриноцитів, виражена лімфоїдна інфільтрація, інтерстиціальний набряк, помірний периваскулярний і інтерстиціальний фіброз. При дозі 30 мг/кг спостерігалася аналогія, однак були більш виражені некротичні, некробіотичні та дистрофічні зміни екзо- і ендокриноцитів, збільшувалася лейкоцитарна і лімфоїдна інфільтрація, виявлений периваскулярний і інтерстиціальний фіброз, виражений інтерстиціальний набряк і дисциркуляторні розлади.

Введення глютаму натрію в дозах 15 та 30 мг/кг протягом 30 діб призводило до збільшення площі поперечного перерізу ядер ендокриноцитів на 14,6 і 15,6 % (P<0,001) відповідно. Площа поперечного перерізу ядер екзокринних клітин підшлункової залози також збільшується на 10,2 і 13,8 % (P<0,001) відповідно, а відстань між часточками підшлункової залози – на 90,5 і 89,2 % (P<0,001). Проте площа поперечного перерізу екзокринних клітин підшлункової залози була знижена на 5,9 % (P<0,001; див. таблицю).

Після 30-добового введення глютаму натрію в дозі 30 мг/кг спостерігались подібні зміни морфології підшлункової залози, як і в дозі 15 мг/кг, однак значно посилювалися некротичні, некробіотичні та дистрофічні зміни екзо- і ендокриноцитів, збільшувалась лейкоцитарна і лімфоїдна інфільтрація, виявлений периваскулярний і

інтерстиціальний фіброз, виражений інтерстиціальний набряк і дисциркуляторні розлади (рис. 4,б).



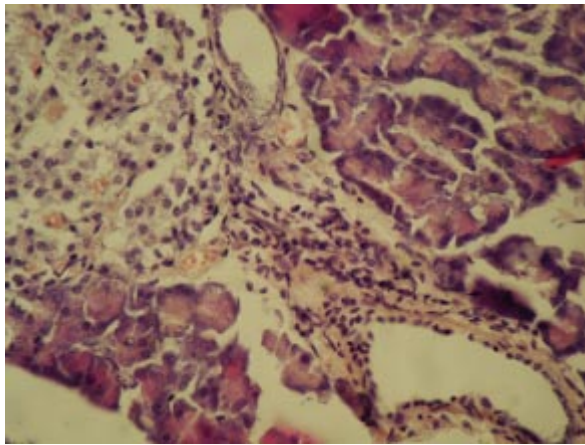
а



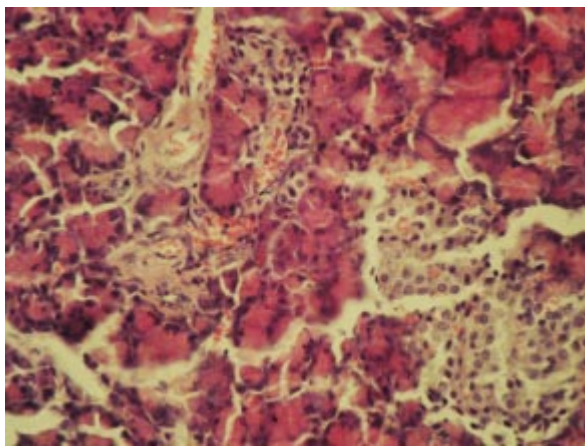
б

Рис. 3. Мікрофотографії підшлункової залози щурів, котрим впродовж 20 діб вводили глютама́т натрію: а – 15 мг/кг, б – 30 мг/кг, x400

Отже, введення глутамату натрію протягом 30 діб у дозах 15 і 30 мг/кг викликає некротичні, некробіотичні та дистрофічні зміни екзо- і ендокриноцитів, лейкоцитарну і лімфоїдну інфільтрацію, периваскулярний і інтерстиціальний фіброз, набряк і дисциркуляторні розлади. А також збільшення площі поперечного перерізу ядер ендо- та екзокриноцитів, що свідчить про інтенсифікацію синтетичних процесів у клітинах підшлункової залози, і зменшення площі поперечного перерізу екзокринних клітин, що є ознакою стимуляції у них секреторних процесів. Описані зміни є характерними для гострого панкреатиту.



а



б

Рис. 4. Мікрофотографії підшлункової залози щурів, котрим впродовж 30 діб вводили глутамат натрію: а – 15 мг/кг, б – 30 мг/кг, х400

Таким чином, отримані нами результати ставлять під сумнів традиційні твердження про те, що використання харчової добавки глутамату натрію в розумних межах (1 г на добу) є безпечним [11, 18]. Ми показали, що щодобове введення глутамату натрію щурам у дозі 15 і 30 мг/кг протягом 30 діб призводить до запалення підшлункової залози. Можна припустити, що його споживання в кількості 3 г на добу є небезпечним для здоров'я людини [7, 12, 16]. Небезпечними можуть бути і низькі дози глутамату натрію (1 і 2 г на добу для середньостатистичної людини) тому, що введення його щурам в дозах 15 і 30 мг/кг (в порівнянні на 1 і 2 г глутамату натрію для людини) протягом 30 діб, призводить до збільшення площі поперечного перерізу ядер ендо- та екзокринних клітин підшлункової залози. Ці факти свідчать про стимуляцію секреторних процесів у екзокринних клітинах.

Що стосується механізму дії глутамату натрію на підшлункову залозу, то глутамат/аспартатпоглинаюча система, аналогічна описаній у центральній нервовій системі, була знайдена в тканині цієї залози [14]. Крім того, численні дослідження показали наявність глутаматних рецепторів в ендо- та екзокринних клітинах підшлункової залози [13]. Отже, можна припустити, що тривале щодобове введення глутамату натрію викликає надмірне збудження глутаматних рецепторів останньої, що призводить до збільшення синтетичних і секреторних процесів у її клітинах та до розвитку панкреатиту.

Для інтерпретації одержаних результатів на людину, слід взяти до уваги той факт, що вік щурів набагато менший, ніж у людини та метаболічні процеси проходять набагато швидше. Більшість дослідників вважають, що 10 діб щурів, відповідають 3 міс людини, 20 та 30 діб – 6 і 9 міс відповідно [9]. Таким чином, глутамат натрію можна включити до групи речовин, що стимулюють секрецію підшлункової

залози, а отримані результати можуть стати експериментальним обґрунтуванням і поясненням погіршення захворюваності на панкреатит, особливо тієї частини населення, що зловживає харчуванням в закладах «фаст-фуд». Одержані результати слід враховувати кожній людині при формуванні щоденного раціону, оскільки глютамат натрію широко використовується в багатьох харчових виробництвах і користується великою популярністю в світі.

ВИСНОВКИ

1. Тривале щодобове вживання глютамату натрію навіть у безпечних дозах призводить до розвитку панкреатиту, що проявляється лімфоїдною інфільтрацією та фіброзом у інтерстиції, дистрофічними, некробіотичними та некротичними змінами у екзокринній частині залежно від дози введення.

2. Максимальні добові дози харчових добавок, що містять глютамінову кислоту та її солі, мають бути переглянуті, враховуючи їх несприятливий вплив на підшлункову залозу.

**И.В. Лещенко, В.Г. Шевчук,
Т.М. Фалалеева, Т.В. Берегова**

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ГЛУТАМАТА НАТРИЯ НА СТРУКТУРУ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС

Изучали влияние длительного введения глютамата натрия на поджелудочную железу крыс. Установлено, что 30-суточное введение его в дозах 15 и 30 мг/кг (соответствует 1 и 2 г/человека) вызывает некротические, некробиотические и дистрофические изменения экзо- и эндокриноцитов, лейкоцитарную и лимфоидную инфильтрацию, периваскулярный и интерстициальный фиброз, отек и дисциркуляторные расстройства. Следует отметить увеличение площади поперечного сечения ядер эндо- и экзокриноцитов, что свидетельствует об интенсификации синтетических процессов в клетках поджелудочной железы, а также уменьшение площади поперечного сечения экзокринных клеток поджелудочной железы, что является признаком стимуляции в них секреторных процессов. Описанные изменения характерны для острого панкреатита. Сделан вывод, что максимальные суточные дозы пищевых добавок, содержащих глютаминовою кислоту и ее соли,

должны быть пересмотрены, учитывая их неблагоприятное воздействие на поджелудочную железу.

Ключевые слова: глютамат натрия, поджелудочная железа, панкреатит.

**I.V. Leschenko, V.G. Shevchuk,
T.M. Falalyeyeva, T.V. Bereгова**

THE INFLUENCE OF LONG-TERM MONOSODIUM GLUTAMATE FEEDING ON THE STRUCTURE OF RATS PANCREAS

The influence of prolonged administration of monosodium glutamate (MSG) on pancreas in rats was studied. It was established that 30-days feeding by MSG in the doses 15 to 30 mg/kg (equivalent to 1 and 2 g/person) leads to necrotic, necrobiotic and degenerative changes in exocrine and endocrine cells, leukocytic and lymphoid infiltration, perivascular and interstitial fibrosis, edema and discirculatory disorders. Introduction of sodium glutamate increases the cross-sectional area of nuclei of exocrine and endocrine cells, indicating intensification of synthetic processes in the cells of the pancreas and reduces the cross-sectional area of exocrine pancreatic cells, which is a sign of stimulation of secretory processes in exocrine cells. The changes described are characteristic of the acute pancreatitis. It is concluded that the maximum daily dose of food supplements containing glutamic acid and its salts should be reviewed because of their adverse effects on the pancreas. It is concluded that the maximum dose of MSG should be reconsidered taking into account its influence on the pancreas.

Key words: monosodium glutamate, pancreas, pancreatitis.

O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv;

Taras Shevchenko National University of Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.:Практика, 1998. – 459 с.
2. Лили Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. – К. : Мир, 1969.– 648 с.
3. Мальцев В.И., Белоусов Д.Ю. Этическая оценка методик проведения исследований // Ежемесячник «Аптека». – 2001. - № 34. - С. 35.
4. Покровский В.И. Биомедицинская этика. – М., 1997. – 224 с.
5. МОЗ, Центр медичної статистики МОЗ України. – К., 2009. – 105 С.
6. Фалалеева Т.М., Кухарський В.М., Берегова Т.В. Вплив тривалого введення глютамату натрію на структурно-функціональний стан шлунка та масу тіла щурів // Фізіол. журн. – 2010. – 56, № 4. – С. 102–110.
7. Allen D.H., Delohery J., Baker G. Monosodium L-glutamate-induced asthma // J. Allergy and Clin. Immunol. – 1987. – 80. – P. 530–537.

8. Cao Y., Song G. Purinergic modulation of respiration via medullary raphe nuclei in rats // *Respir. Physiol. & Neurobiol.* – 2007. – **155**, № 2. – P. 114–120.
9. Cutler R.G. Peroxide-producing potential of tissues: inverse correlation with longevity of mammalian species. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1985. – **82**, № 14. – P.4798–4802.
10. Davies N.E. Chinese-restaurant syndrome // *N. Engl. J. Med.* – 1968. – **278**, № 20. – P. 1124.
11. Freeman M. Reconsidering the effects of monosodium glutamate: a literature review // *J. Amer. Acad. Nurse Pract.* – 2006. – **18**, № 10. – P. 482–486.
12. Гарсна О.І.С., Moyano С., Fonseca J.L., Bellido J. The Chinese restaurant syndrome // *Med. Clin. (Barc).* – 1996. – **107**, № 13. – P. 518.
13. Gendron T.F. Glutamate receptors in peripheral tissue / Eds. Gill S., Pulido O. – New York: Plenum Publishers, 2005. – P. 147–168.
14. Howell J.A. Molecular identification of high-affinity glutamate transporters in sheep and cattle forestomach, intestine, liver, kidney, and pancreas // *J. Anim. Sci.* – 2001, – **79**, №5. – P. 1329–1336.
15. Kwok R.H.M Chinese-restaurant syndrome // *N. Engl. J. Med.* – 1968. – **278**, № 20. – P. 796.
16. Morselli P.L., Garattini S. Monosodium glutamate and the Chinese restaurant syndrome // *Nature (Lond.).* – 1970. – **227**. – P. 611–612.
17. Williams A.N., Woessner K.M. Monosodium glutamate ‘allergy’: menace or myth? // *Clin. Exp. Allergy.* – 2009. – **39**, № 5. – P. 640–646.
18. Yang W.H., Drouin M.A., Herbert M., Mao Y., Karsh J. The monosodium glutamate symptom complex: assessment in a double-blind, placebo-controlled, randomized study // *J. Allergy Clin. Immunol.* – 1997. – **99**. – P. 757–762.

*Нац. мед. ун-т ім. О.О. Богомольця, Київ;
Київ. нац. ун-т ім. Тараса Шевченка
E-mail: neetnool@gmail.com*

*Матеріал надійшов до
редакції 03.01.2011*