

DOI: 10.21802/artm.2024.1.29.162
УДК 611.441:612.392.9]-08

ВПЛИВ ГЛУТАМАТУ НАТРІЮ НА МІКРОСТРУКТУРУ ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ СТАТЕВОЗРІЛИХ БІЛИХ ЩУРІВ

Л.О. Святоцька

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна.

ORCID ID: 0009-0006-7499-7001, e-mail: lilysvyatotska@gmail.com

Резюме. Глутамат натрію є однією з найпоширеніших харчових добавок. На цей момент безпечна концентрація MSG в раціоні та його токсичність залишаються предметом дискусії. Дослідження спрямоване на вивчення токсичного впливу глутамату натрію на тканину щитоподібної залози щурів. Дослід проводився на 20-ти статевозрілих самцях білих щурів репродуктивного віку лінії Вістар у два терміни. Щурів було поділено на дві групи, котрі щоденно отримували глутамат натрію в раціоні у дозі 0,07 г/кг з вільним доступом до води. Через 4 та 8 тижнів тварин виводили з експерименту та оцінювали стан щитоподібної залози за допомогою гістологічного методу. Через 4 тижні введення глутамату натрію дослідження показали наявність структурованої капсули залози, що прилягає до паренхіми та розділяє її на часточки. Фолікули були різні за розміром, їхній просвіт містив ацидофільний колоїд, периферійні фолікули були більші та обмежені плоским або низьким кубічним епітелієм, тоді як центральні фолікули мали менший діаметр і вирізнялись одношаровим кубічним епітелієм з округлими ядрами. На цьому етапі експерименту виявлено ділянки збільшення висоти епітелію, периферійні фолікули містили резорбційні вакуолі, а також відзначалося ушкодження базальної мембрани.

Через 8 тижнів введення глутамату натрію можна стверджувати про збільшення середньої висоти клітин фолікулів, гіперплазію клітин, зменшення кількості колоїду та переповнені кровоносні судини. Було відзначено зміни з боку мікро- та макросудин, що підтверджують розвиток ангіопатії за умов впливу глутамату натрію. Поява великої кількості пікнотичних клітин, котрі стали виражені у зв'язку з тривалістю дослідження.

У результаті морфологічного дослідження встановлено, що внаслідок тривалого впливу дії глутамату натрію на щитоподібну залозу розвивалися виразні зміни щитоподібної залози білих щурів, зокрема змін набули форми фолікулярних клітин, а також спостерігалось збільшення висоти епітелію фолікулів та зменшення кількості колоїду, крім того, відзначалася гіперплазія епітелію фолікулів зі збільшеною маргінальною вакуолізацією.

Ключові слова: щитоподібна залоза, тирецит, харчова добавка, глутамат натрію, гістологія, мікроскопічна будова, білий щур, експеримент.

Вступ. Глутамат натрію – зареєстрована в Україні популярна харчова добавка E621, яка в Європейських країнах позначається як MSG. Глутамат є однією з найбільших загальнодоступних амінокислот у природі. Існують два основні джерела глутамату, одне з яких – власний організм, котрий може самостійно синтезувати глутамінову кислоту, що є основною складовою тканинних білків і пептидів та відіграє важливу роль у обміні речовин людини та є найпоширенішим збуджуючим нейромедіатором у нервовій системі хребетних, друге – природні продукти харчування тваринного і рослинного походження, які, зокрема, містяться в помідорах, м'ясі, молоці, грибах, сирі, кукурудзі, бобових, рибі. [1].

MSG є одним з найпоширеніших харчових добавок. Він використовується у різних концентраціях залежно від типу харчових продуктів. На сьогоднішній день безпечна концентрація MSG в раціоні та його токсичність для людини залишаються предметом дискусії [2]. MSG є загальнопоширеним засобом для покращення органолептичних властивостей страв як домашнього приготування, так і в харчовій промисловості. Тому більшість консервованих і швидкозаморожених продуктів, такі як: ароматизовані чіпси, консервовані готові страви, мариноване м'ясо, пляшкові соєві соуси, заморожені продукти та тунець, можуть містити різні концентрації MSG.

Беручи до уваги інформацію про вплив MSG на морфо-функціональний стан щитоподібної залози, з'ясовано, що серед науковців таке питання досі

викликає суперечливу реакцію. Деякі автори повідомляють про несуттєві зміни в морфології щитоподібної залози після тривалого введення MSG в раціон щурів [3]. Інші автори повідомляють, що споживання MSG під час вагітності самиць щурів негативно впливає на плід, його ріст і розвиток скелета та, як наслідок, спричиняє ряд біохімічних і гістологічних змін у печінці матері та плода, також було відзначено токсичний і тератогенний ефект [4]. Результати дослідження свідчать про підвищення активності щитоподібної залози в дорослих щурів, які отримували MSG (4 мг/г маси тіла) упродовж одного тижня, ефект спостерігали навіть через місяць після останньої дози [5].

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Стаття є частиною планової науково-дослідної роботи кафедри нормальної анатомії та оперативної хірургії з топографічною анатомією Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького «Морфо-функціональні особливості органів у пре- та постнатальному періодах онтогенезу, при впливі опіоїдів, харчових добавок, реконструктивних операціях та ожирінні» (номер державної реєстрації 0120U002129).

Мета дослідження. Встановити наслідки тривалого впливу мононатрієвої солі глутамінової кислоти на морфологічний стан щитоподібної залози статевозрілих самців білих щурів.

Об'єкт і методи дослідження. Експеримент проводили на 20-ти статевозрілих самцях білих щурів репродуктивного віку лінії Вістар (3,5–4 міс.). На

початок експерименту маса щурів становила $247,0 \pm 5,0$ г. Щоденно 20-ти щурам перорально піпеткою вводили 70 мг/кг глютамату натрію для підсилення смакових характеристик їжі [6, 7] з вільним доступом до води. У перерахунку доза 70 мг для щура еквівалентна в середньому 790 мг для людини вагою 70 кг. Формула перерахунку відповідно [8]: доза людини (мг / кг) = доза щура (мг / кг) \times Km співвідношення (6.2 для щура) = 70 мг/кг \times 6.2 = 11,29 мг/кг; доза людини середньої ваги 70 кг – 11,29 мг/кг \times 70 кг = 790 мг. Контролем слугували щитоподібні залози 6 інтактних білих щурів. Через 4 та 8 тижнів споживання глютамату натрію щурів виводили з експерименту шляхом декапітації (у зв'язку з необхідністю отримання крові для подальших біохімічних досліджень) з використанням ефірного наркозу для евтаназії. Щурів утримували в умовах віварію Львівського Національного університету імені Данила Галицького.

Усі дослідження проведено з дотриманням основних положень GCP (1996), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04.1997), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964-2013), наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009, № 616 від 03.08.2012 і «Порядку вилучення біологічних об'єктів від померлих, тіла яких підлягають судово-медичній експертизі і патологоанатомічному дослідженню, для наукових цілей», вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською конвенцією про

захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.). Для гістологічного дослідження фрагменти щитоподібної залози фіксували у 10% нейтральному розчині формаліну, зневоднювали в спиртах та заливали в парафінові блоки. В подальшому виготовляли гістозрізи товщиною 5-6 мкм, які фарбували гематоксиліном та еозином. Препарати вивчали та фотографували при збільшеннях мікроскопа: $\times 400$ $\times 1000$. Для фотографування мікропрепаратів використовували комп'ютерну систему «Aver Media».

Результати дослідження та їх обговорення.

Через чотири тижні введення експериментальним тваринам глютамату натрію серії гістологічних зрізів щитоподібної залози показали наявність структурованої капсули, що щільно прилягає до паренхіми залози та розділяє її на часточки. Фолікули варіювали за розміром, периферійні фолікули були більші та обмежені плоским або низьким кубічним епітелієм, тоді як центральні фолікули мали менший діаметр і вирізнялись одношаровим кубічним епітелієм з округлими ядрами. Просвіт фолікула був заповнений ацидофільним колоїдом (рисунок 1). Колоїд периферійних фолікулів містив декілька крайових вакуолей, що можна вважати ознаками резорбції. Вже на цьому терміні експерименту було виявлено ділянки збільшення висоти епітелію фолікула, периферійні фолікули були обмежені кубічним епітелієм з округлими центральними ядрами та містили велику кількість резорбційних вакуолей (рисунок 1). Центральні фолікули наповнені колоїдом подекуди з поодинокими ушкодженнями базальної мембрани.

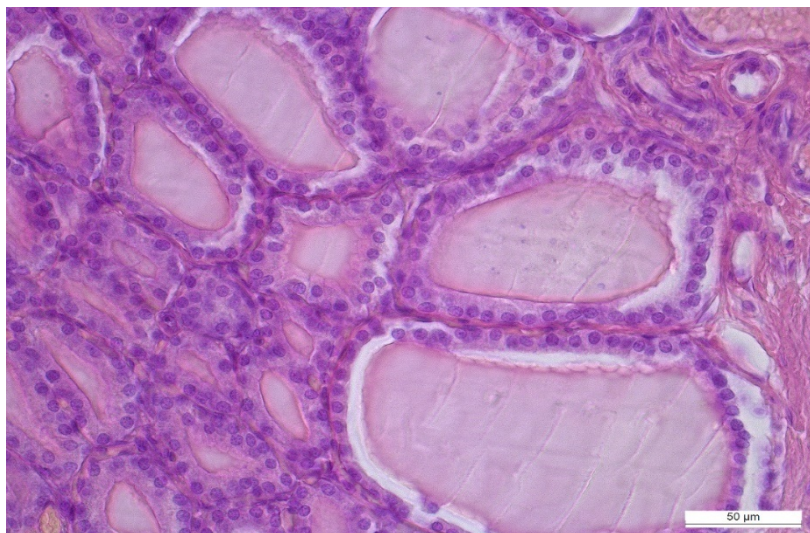


Рис. 1. Фрагмент щитоподібної залози білого щура після 4 тижнів прийому глютамату натрію. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.: $\times 400$.

Через вісім тижнів експерименту відзначали зменшення розмірів фолікулів та нерівномірність форми частини фолікулів щитоподібної залози, подекуди з розривами їхньої базальної мембрани. Виявлено гіперплазію фолікулів у багатьох часточках щитоподібної залози. Епітелій фолікула видовжився, виявлено множинні епітеліальні клітини фолікулів з пікнотичними ядрами, каріопікноз спостерігали і в клітинах міжфолікулярного простору (рисунок 2).

Центральний колоїд містив численні експолізовані клітини. Спостерігали зменшення кількості вмісту колоїду зі збільшеною кількістю резорбційних вакуолей. Крім того, спостерігали повністю порожні фолікули від колоїду. Відзначали в деяких ділянках щитоподібної залози набряк її сполучнотканинних проміжків, а в інших ділянках – звуження ділянок строми та збільшення частини паренхматозних

елементів (рисунок 3), що можна розглядати як ознаку підвищення активності функції щитоподібної залози.

Привертає увагу реакція гемомікроциркуляторного русла на введення глютамату натрію, зокрема,

переповнені кровоносні судини, формування пристінкових тромбів, зміна форми і розмірів просвітів мікросудин (рисунок 4).

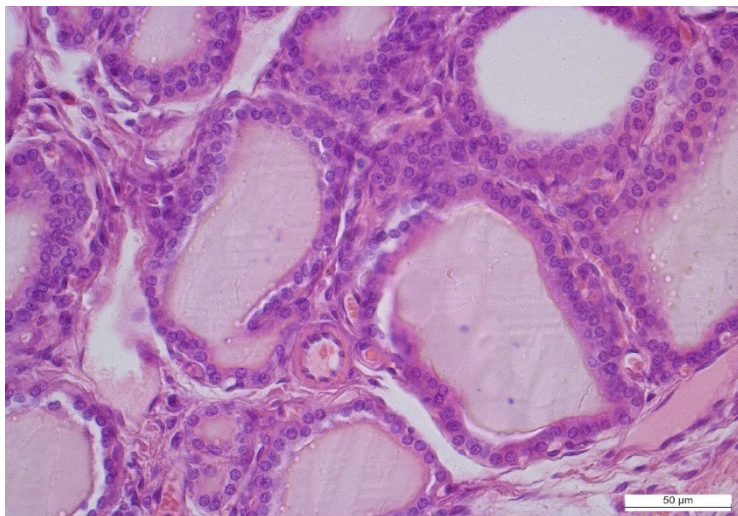


Рис. 2. Фрагмент щитоподібної залози білого щура після 8 тижнів прийому глютамату натрію. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.: x400.

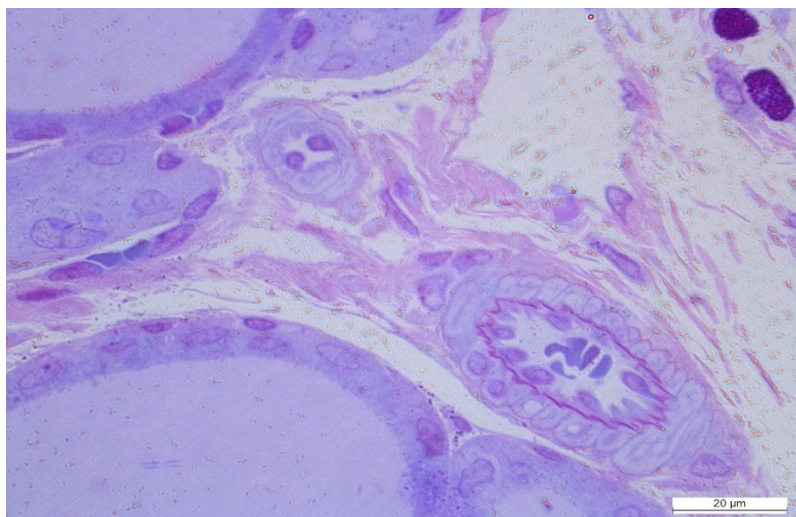


Рис. 3. Фрагмент щитоподібної залози білого щура після 8 тижнів прийому глютамату натрію. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.: x1000.

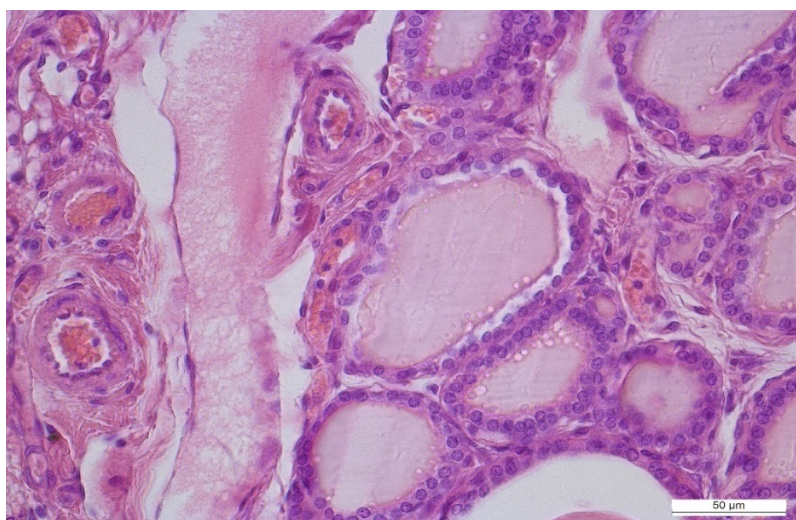


Рис. 4. Фрагмент щитоподібної залози білого щура після 8 тижнів прийому глютамату натрію. Мікрофотографія. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Зб.: x400.

Харчова добавка глутамат натрію (MSG) може стимулювати чутливі рецептори, покращувати смак страв та збільшувати апетит, тому MSG вважається однією з основних причин збільшення ваги [9]. Деякі дослідження відзначали набір ваги у новонароджених мишей після прийому MSG, що призводило до уражень в дугоподібному ядрі гіпоталамуса (ARCN) [10].

Результати нашого дослідження чітко вказують на залежність глибини змін структурної організації щитоподібної залози від терміну споживання глутамату натрію. Таку ж залежність виявили інші дослідники, зокрема, при вивченні впливу вказаної харчової добавки на морфологічний стан селезінки та лімфатичних вузлів [11, 12]. Можна стверджувати про збільшення середньої висоти клітин фолікулів, зменшення кількості колоїду в деяких фолікулах разом з переповненими кровоносними судинами після щоденного перорального введення MSG у дозі 70 мг/кг ваги тіла протягом восьми тижнів. Дослідження показують, що така реакція схожа на гістологічні зміни, викликані гойтрогенами. Реакція щитоподібної залози на гойтрогени раніше описувалася як трифазна відповідь [13]. Спочатку відбувається раннє проникливе збільшення проліферації епітеліальних та стромальних клітин щитоподібної залози, яке досягає піку приблизно через 2 тижні і повертається до початкових рівнів протягом 3 місяців. У нашому дослідженні гіперплазія клітин фолікулів спостерігається через вісім тижнів від прийому MSG. Крім того, помічені нами зміни з боку мікро- та макросудин підтверджують розвиток ангіопатії за умов впливу глутамату натрію [14, 15].

Поява пікнотичних клітин, які стали більш помітними в період дослідження, відшарованих пікнотичних клітин у колоїді, підтверджує раніше отриманий результат в дослідженнях інших авторів, які пояснюють такі зміни окиснювальним пошкодженням, оскільки утворення реактивних форм кисню вважається первинною подією при різних стресових умовах [16].

Висновки.

Глутамат натрію при введенні його в раціон протягом чотирьох тижнів не призводить до виражених змін форми або діаметрів фолікулів щитоподібної залози та цитоархітекtonіки в цілому. Через вісім тижнів впливу глутамату натрію спостерігали виразні морфологічні зміни щитоподібної залози білих щурів, зокрема, зміну форми фолікулярних клітин, а також збільшення висоти епітелію фолікулів та зменшення кількості колоїду, відзначали гіперплазію епітелію фолікулів зі збільшеною маргінальною вакуолізацією та появу відшарованих пікнотичних клітин у колоїді.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому наші дослідження будуть пов'язані з вивченням гістологічних, морфометричних та електронно-мікроскопічних змін структурних компонентів щитоподібної залози щурів при тривалому введенні та відміні глутамату натрію.

References.

1. Babić Leko M, Gunjača I, Pleić N, Zemunik T. Environmental Factors Affecting Thyroid-Stimulating Hormone and Thyroid Hormone Levels. *Int J Mol Sci.*

2021;22(12):6521. Published 2021 Jun 17. doi:10.3390/ijms22126521

- Banerjee A, Mukherjee S, Maji BK. Worldwide flavor enhancer monosodium glutamate combined with high lipid diet provokes metabolic alterations and systemic anomalies: An overview. *Toxicol Rep.* 2021;8:938-961. Published 2021 Apr 29. doi:10.1016/j.toxrep.2021.04.009
- Moldovan OL, Rusu A, Tanase C, Vari CE. Glutamate - A multifaceted molecule: Endogenous neurotransmitter, controversial food additive, design compound for anti-cancer drugs. A critical appraisal. *Food Chem Toxicol.* 2021;153:112290. doi:10.1016/j.fct.2021.112290
- Shosha HM, Ebaid HM, Toraih EA, Abdelrazek HMA, Elrayess RA. Effect of monosodium glutamate on fetal development and progesterone level in pregnant Wistar Albino rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2023;30(17):49779-49797. doi:10.1007/s11356-023-25661-x
- Hazzaa SM, El-Roghy ES, Abd Eldaim MA, Elgarawany GE. Monosodium glutamate induces cardiac toxicity via oxidative stress, fibrosis, and P53 proapoptotic protein expression in rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2020;27(16):20014-20024. doi:10.1007/s11356-020-08436-6
- Ruc'ka AV, Gec'ko NV, Krinic'ka IYa. Toksichniy vpliv glutamatu natriyu na zhiviy organizm (oglyad literaturi). *Medichna ta klinichna himiya.* 2017;19(1):119-127. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2017.v0.i1.7685. [in Ukrainian].
- Matashuk-Vaceba LR, Garapko TV, Kirik HA, Blishchak NB, Primachenko VI, Pidval'na UE, et al. *vynakhidnyky; L'vivs'kyu natsional'nyy medychnyy universytet imeni Danyla Halyts'koho, patentovlasnyk. Sposib modelyuvannya eksperimental'nogo alimentarnogo ozhirinnya oposeredkovanym vplivom glutamatu natriyu. Patent Ukrainy № 144191. 2020 Ver 10.* [in Ukrainian].
- Nair AB, Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *J Basic Clin Pharm.* 2016;7(2):27-31. doi:10.4103/0976-0105.177703
- Reddy AK, Ghoshal JAK, Pk S, Trivedi GN, Ambareesha K. Histomorphometric study on effects of monosodium glutamate in liver tissue of Wistar rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2021;32(5):1007-1012. Published 2021 Feb 12. doi:10.1515/jbcpp-2020-0264
- Gürgen SG, Sayın O, Çeti N F, et al. The Effect of Monosodium Glutamate on Neuronal Signaling Molecules in the Hippocampus and the Neuroprotective Effects of Omega-3 Fatty Acids. *ACS Chem Neurosci.* 2021;12(16):3028-3037. doi:10.1021/acchemneuro.1c00308
- Garapko T.B. Субмікроскопічні зміни селезінки при дії глутамату натрію та корекції мелатоніном. *Морфологія.* 2020;14(3):22-8. doi: 10.26641/1997-9665.2020.3.22-28
- Harapko T, Matashuk-Vatseba L, Goncharuk-Khomyn M, Bekesevych A, Lytvak Yu. Changes in the Structural Organization of Lymph Nodes and Biochemical Indicators of Blood Due to the Action of Sodium Glutamate. *Journal of International Dental and Medical Research.* 2020;13(4):1578-84.

13. Babiker A, Alawi A, Al Atawi M, Al Alwan I. The role of micronutrients in thyroid dysfunction. *Sudan J Paediatr.* 2020;20(1):13-19. doi: 10.24911/SJP.106-1587138942. PMID: 32528196; PMCID: PMC7282437.
14. Sodomora O. The Effect of Monosodium Glutamate Consumption on Carotid Sinus Morphology: an Electron Microscopy Experimental Study. *Вісник проблем біології та медицини.* 2022;4(167):316–321. DOI 10.29254/2077-4214-2022-4-167-316-321
15. Содомора ОО. Морфометрична характеристика стінки сонної пазухи за умов впливу глутамату натрію в експерименті. *Вісник морфології.* 2023; 29(1):40–46. [https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29\(1\)-06](https://doi.org/10.31393/morphology-journal-2023-29(1)-06)
16. Nnadozie JO, Chijioke UO, Okafor OC, et al. Chronic toxicity of low dose monosodium glutamate in albino Wistar rats [published correction appears in *BMC Res Notes.* 2020 Jan 9;13(1):21]. *BMC Res Notes.* 2019;12(1):593. Published 2019 Sep 18. doi:10.1186/s13104-019-4611-7

UDC 611.441:612.392.9]-08

THE INFLUENCE OF SODIUM GLUTAMATE ON THE MICROSTRUCTURE OF THE THYROID GLAND OF MATURE WHITE RATS

L.O. Sviatotska

*Lviv National Medical University named after Danylo Halyskyi, Department of Normal Anatomy, Lviv, Ukraine
ORCID ID: 0009-0006-7499-7001,
e-mail: lilysvyatotska@gmail.com*

Abstract. Sodium glutamate is a popular food additive registered in Ukraine as E621, while in European countries, it is labeled as MSG. Chemically pure sodium glutamate was first synthesized in 1907 by the Tokyo Imperial University researcher Kikunae Ikeda. Over the past decade, the flavor enhancer sodium glutamate has become widely used and popular worldwide. Sodium glutamate is the monosodium salt of glutamic acid, containing 78% glutamic acid, 22% sodium salt, and water. Glutamate is one of the most abundant amino acids in nature. There are two main sources of glutamate, one being the body itself, which can synthesize glutamic acid, a major component of tissue proteins and peptides, playing an important role in human metabolism and being the most common excitatory neurotransmitter in the vertebrate nervous system. The second source is natural food products of animal and plant origin, including tomatoes, meat, milk, cheese and corn.

MSG is one of the most common food additives. It is used in various concentrations depending on the type of food products. To this day, the safe concentration of MSG in the diet and its toxicity to humans remain subjects of debate. MSG is a widely used means of improving the organoleptic properties of homemade dishes as well as in the food industry. Therefore, most canned and frozen products may contain various concentrations of MSG. Based on the literature studying the effects of MSG on the morpho-functional state of the thyroid gland, this issue still evokes a controversial reaction among researchers.

The study was aimed at investigating the toxic effect of sodium glutamate on the thyroid tissue of rats. The study was conducted on 20 sexually mature male white rats of the Wistar line in two terms of the experiment – two groups of rats that received sodium glutamate daily in the diet at a dose of 0.07 g/kg with free access to water. After 4 and 8 weeks, the animals were withdrawn from the experiment, and the state of the thyroid gland was evaluated histologically. After 4 weeks of sodium glutamate administration, the study showed the presence of a structured capsule of the gland, which adjoins the parenchyma and divides it into lobules. The follicles varied in size, their lumen contained acidophilic colloid, peripheral follicles were larger and limited by flat or low cuboidal epithelium, while central follicles had a smaller diameter and were distinguished by a single layer of cuboidal epithelium with round nuclei. At this stage of the experiment, areas of increased epithelium height were found, peripheral follicles contained resorptive vacuoles, and damage to the basement membrane was also noted.

After 8 weeks of sodium glutamate administration, it can be stated that there was an increase in the average height of follicular cells, hyperplasia of cells, a decrease in the amount of colloid, and congested blood vessels. Changes in micro- and macrovessels were noted, confirming the development of angiopathy under the influence of sodium glutamate. The appearance of a large number of pyknotic cells, which became more pronounced with the duration of the study, was noted.

As a result of the morphological study, it was established that as a result of the prolonged exposure to sodium glutamate on the thyroid gland, pronounced changes occurred in the thyroid gland of white rats, including a change in the shape of follicular cells, an increase in the height of follicular epithelium, a decrease in the amount of colloid, hyperplasia of follicular epithelium with increased marginal vacuolization.

Keywords: thyroid gland, thyrocyte, nutritional supplement, monosodium glutamate, histology, microscopic structure, white rat, experiment.

Стаття надійшла в редакцію 13.02.2024 р.
Стаття прийнята до друку 26.03.2024 р.