

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ТИМУСЕ КРЫС ПРИ УПОТРЕБЛЕНИИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО НАПИТКА В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Ильясов А. С.

Навоинский инновационный университет д.б.н.
профессор кафедры точных и естественных наук
(Навай, Узбекистан) UDK: 616.351-632.951/(615.9)-084
ORCID: 0009-0008-2332-7682
azizilyasov63@gmail.com

Рахмонова К.Э

Бухарский филиал специализированного научно-практического
центра онкологии и радиологии врач патологоанатом
УДК: 618.12-089.87.168.1:616-053
<https://orcid.org/0009-0004-0846-0842>
rakhmonova88@inbox.ru

Аннотация:

В последние годы потребление энергетических напитков значительно возросло, особенно среди молодежи. Однако их влияние на органы иммунной системы, в частности тимус, остается недостаточно изученным. Тимус играет ключевую роль в формировании иммунитета, поэтому изменения в его структуре могут оказывать долгосрочное воздействие на здоровье.

Ключевые слова: тимус, энергетический напиток, иммуногистохимия, гистохимия, лимфоциты, апоптоз, постнатальный онтогенез.

Introduction

Введение. Тимус — центральный, или первичный, орган лимфоидной (иммунной) системы. Как известно, его основные функции заключаются в обеспечении созревания и дифференцировки тимоцитов, интеграции различных популяций тимоцитов и макрофагов для реализации иммунных ответов [Ильясов А.С 2024].

Первый энергетический напиток появился в США в 1949 году и продавался под названием “Dr. Enuf”. [Ibrahim NK 2022] В Европе они были впервые представлены в 1987 году; затем рынок расширился по всему миру, став очень популярным после запуска Red Bull в 1997 году. [Zucconi S 2013] С тех пор рынок энергетических напитков значительно вырос, и по всему миру появились различные бренды. Ежегодное потребление энергетических напитков в 2013 году превысило 5,8 миллиарда литров примерно в 160 странах. [Bailey RL 2014] По оценкам, общий объем розничного рынка энергетических напитков в США в 2012 году составил около 12,5 млрд долларов США, а с 2006 по 2016 год рынок увеличился на 56%. [Reissig CJ 2009]

В последнее время производители переключили свое внимание со спортсменов на молодежь. Энергетические напитки активно продаются в местах, популярных среди подростков и молодежи. Примерно две трети потребителей энергетических напитков составляют люди в возрасте от 13 до 35 лет, и две трети рынка составляют мальчики. Mintel Energy Drink Report в 2012 году США энергетические напитки являются второй по распространенности пищевой добавкой, употребляемой молодыми людьми; около 30% из них употребляют энергетические напитки на регулярной основе. [Kaur, S 2020] Популярность энергетических напитков в Королевстве Саудовская Аравия, похоже, не отличается от других регионов мира. Около половины студентов саудовских университетов, принявших участие в опросе, признались, что регулярно употребляют энергетические напитки. [Alsunni AA 2011]

Энергетические напитки предназначены для того, чтобы дать потребителю “заряд бодрости” за счет сочетания стимуляторов и энергетических добавок. Основным компонентом большинства энергетических напитков является кофеин. Обычно они содержат 80-150 мг кофеина на 8 мг, что эквивалентно 5 мг кофе или двум банкам газировки с кофеином по 12 мг. [Alsunni AA 2012] Большинство брендов, представленных на рынке, содержат большое количество глюкозы, в то время как некоторые бренды предлагают искусственно подслащенные варианты. Другими широко используемыми компонентами являются таурин, метилксантины, витамин В, женьшень, гуарана, мате, асаи, мальтодекстрин, инозитол, карнитин, креатин, глюкуронолактон и гинкго билоба. [Kim SY 2017]

В настоящее время высказываются серьезные опасения по поводу безопасности этих продуктов. В нескольких отчетах указывалось на неблагоприятное воздействие энергетических напитков, на здоровье. Несмотря на это, производители энергетических напитков утверждают, что эти продукты подходят для потребителей и что они безопасны [Kozhabek, L 2022]. На самом деле, неблагоприятные последствия для здоровья, связанные с энергетическими напитками, остаются предметом споров среди ученых.

Существует ограниченное количество всеобъемлющих обзоров литературы, которые подробно иллюстрируют пригодность и безопасность употребления энергетических напитков, особенно среди молодежи. Здесь мы рассмотрим доступную литературу о полезных и вредных последствиях для здоровья, связанных с потреблением энергетических напитков [Lévy, S 2019].

В нескольких исследованиях было показано увеличение частоты сердечных сокращений и артериального давления после употребления энергетических напитков. Mandilaras [Li P 2022].

Цель исследования

Оценить иммуногистохимические и гистохимические изменения в тимусе крыс при употреблении энергетического напитка в постнатальном онтогенезе.

Материалы и методы

Эксперимент проводился на крысах (*Rattus norvegicus*) в разные периоды постнатального онтогенеза. Животные были разделены на контрольную и экспериментальную группы. Крысы экспериментальной группы получали энергетический напиток в течение установленного периода. Для оценки морфофункционального состояния тимуса использовались гистологические методы окрашивания (гематоксилин-эозин, PAS-реакция) и иммуногистохимическое исследование экспрессии ключевых маркеров клеточной активности.

Результаты исследования и их обсуждение:

Иммуногистохимическим исследованием установлено, что у 1 месячных крыс контрольной группы, наблюдается положительная окраска маркером Bcl-2, мембранная экспрессия маркера происходит в 68 % клетках паренхимы ткани тимуса.

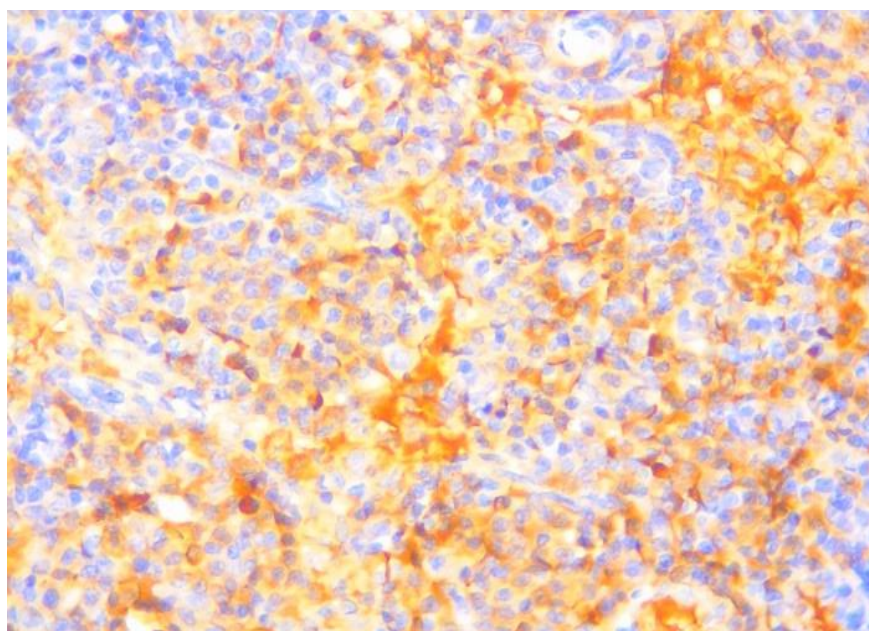


Рис 1 Тимус 1 месячной крысы контрольной группы. Иммуногистохимическое окрашивание с маркером Bcl-2. Высокая экспрессия маркеров в мембране паренхимы органа. В основном в корковом и мозговом слое. Ок. 10 х об. 20

У крыс 3 месячного возраста в экспериментальной группе экспрессия маркера произошла в паренхиме ткани тимуса, в отдельных фокусах 70 % положительная реакция. Блокатор апоптоза Bcl-2 сработал в положительную сторону это свидетельствует о том, что ткань в норме или контроле отвечает организму ингибируя маркер Bcl-2 программируя смерть клетки в естественной среде.

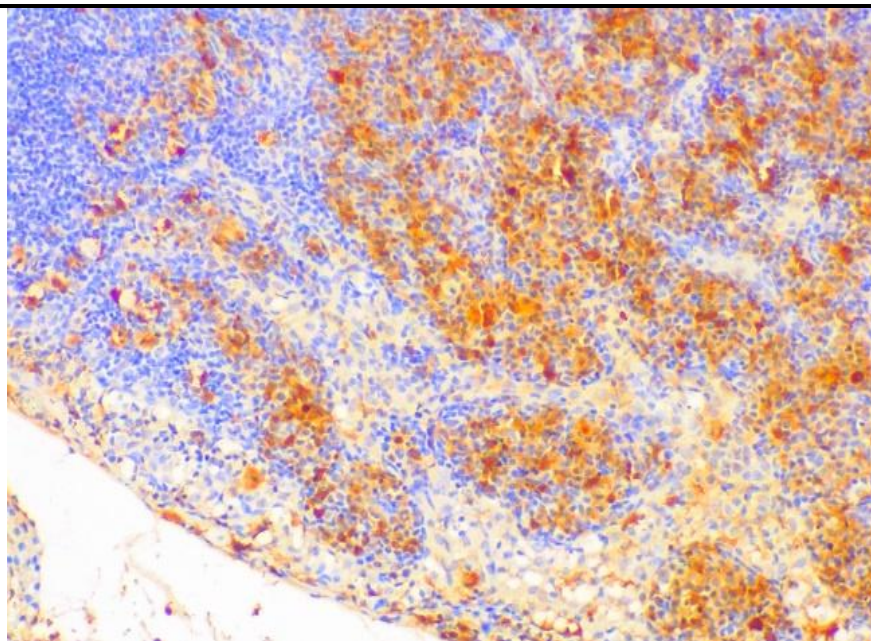


Рис 2 Тимус 3 месячной крысы контрольная группа. Иммуногистохимическое окрашивание с маркером BcL-2 Ок. 20 х об. 40

У крыс 6 месячного возраста тимус крыс 6 месячного возраста в контрольной группе иммуногистохимическое исследование маркером BcL-2, произошла, положительная реакция в 72% ткани, окрашивание очаговое мембранное в основном в корковом слое и в интима крупных сосудов. Интенсивность окрашивания разная в отдельных фокусах от темно-коричневого до светло-коричневой окраски, в основном В-лимфоцитах, в единичном количестве в строме рыхлой соединительной ткани.

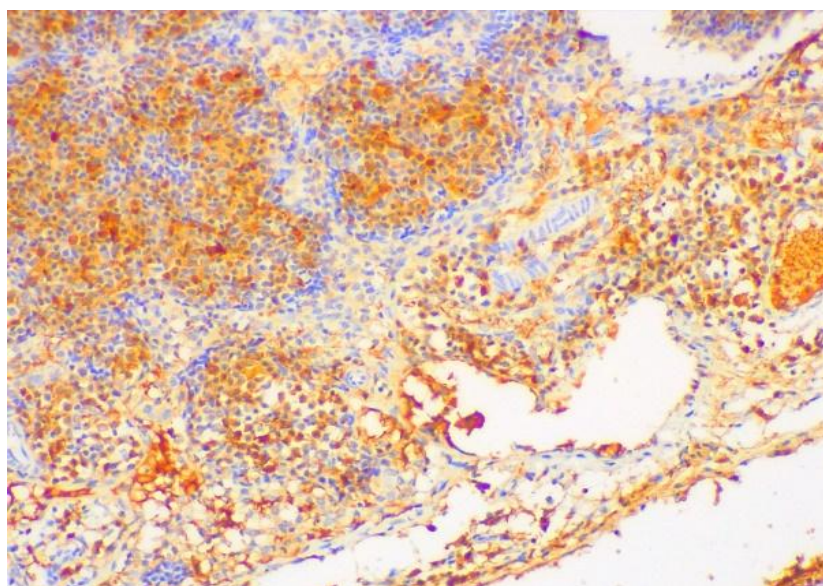


Рис 3 Тимус 6 месячной крысы контрольная группа. Иммуногистохимическое окрашивание с маркером BcL-2 . Ок. 10 х об. 20

Иммуногистохимическое окрашивание маркером Bcl-2 экспериментальной группы крыс с отравлением ЭН, ткань тимуса. Методом иммуногистохимии установлено, что в ткани тимуса в 1 месячном возрасте положительная экспрессия маркера Bcl-2 произошла в 35 % случаев мембранное окрашивание в паренхиме тимуса в корковом веществе.

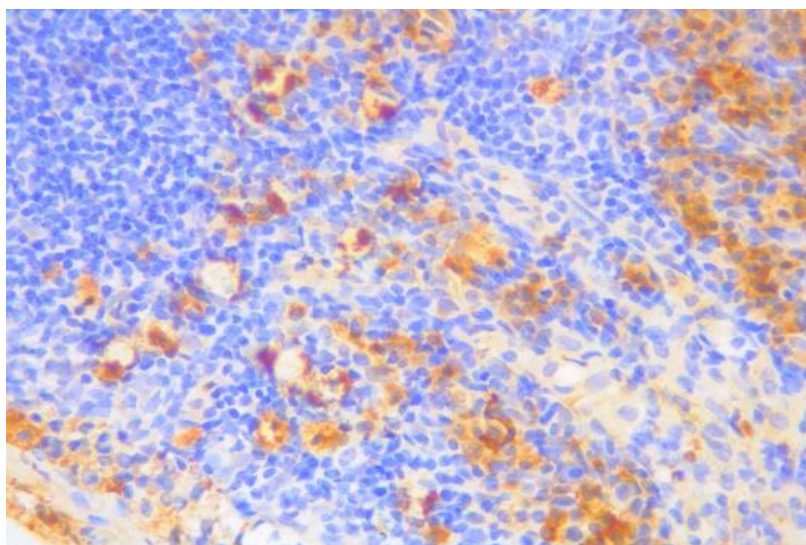


Рис 4 Тимус 1 месячной крысы экспериментальная группа. Иммуногистохимическое окрашивание с маркером Bcl-2 Ок. 20 х об. 40

У крыс 3 месячного возраста в экспериментальной группе методом Иммуногистохимии установлено, что с маркером Bcl-2 произошла экспрессия маркера в 21% случаев в корковом веществе и в капсуле тимуса.

Единичные очаги экспрессии свидетельствуют о том что блокатор апоптоза Bcl-2 отрицательно воздействовал в экспериментальной группе с отравлением ЭН. Ингибирование маркера не произошло так как ЭН воздействовал на центральный орган иммуногенеза путем подавления В и Т лимфоцитов.

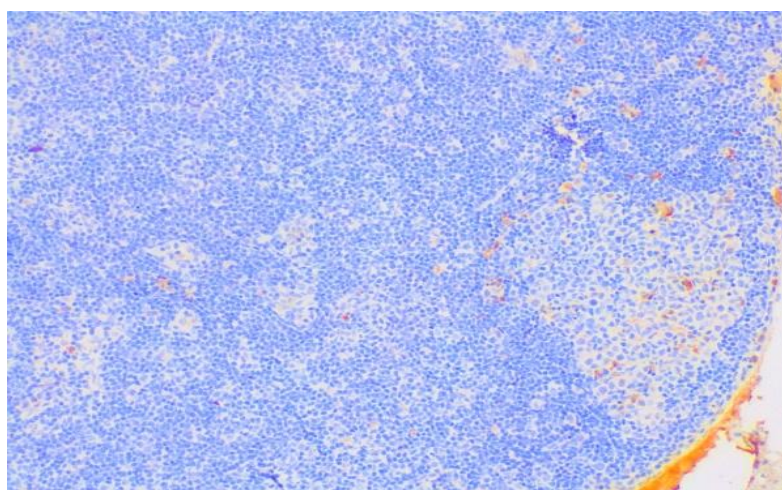


Рис 5 Тимус 3 месячной крысы экспериментальная группа. Иммуногистохимическое окрашивание с маркером Bcl-2 . Ок. 10 х об. 10

Возраст	Контрольная гр	Экспериментальная гр
1 мес	68 %	35 %
3 мес	70 %	21 %
6 мес	72 %	9 %

Гистохимические подходы к оценке ткани тимуса

Выявление тучных клеток в иммунном органогенезе издавна привлекали внимание исследователей. Функциональные особенности тучных клеток позволяют выявлять патологические, физиологические, аллергические реакции которые реализуют врожденный или адаптивный иммунитет.

Гистохимическая реакция с окраской толудиновым синеем крыс 1 месячного возраста контрольной группы. **(Рис.6)** При окрашивании ткани тимуса тучные клетки расположены хаотично, количество из от 6-9 в одном поле зрения, мелких размеров, структура не ровная с базофильно-гранулярными включениями, ядро округлые и расположение тучных клеток в паренхиме органа в основном под капсулой и в трабекулах. Строма ткани состоит из рыхло соединительной ткани, паренхима окрашена в сине-голубой цвет .

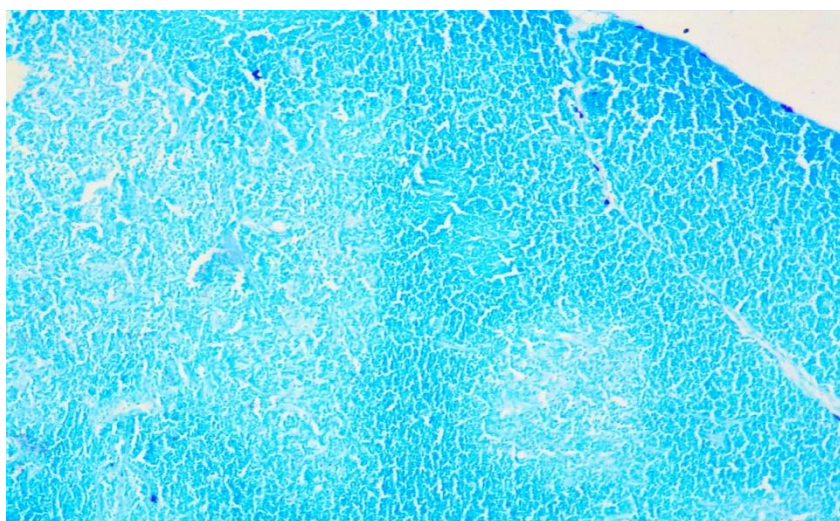


Рис.5.1.1. Строение тимуса крыс в контрольной группе. Методика: окрашивание толудиновым синий . Об.10 ок.10

Гистохимическая реакция толудиновым синеем тимуса крыс 1 месячного возраста в экспериментальной группе показало интенсивное окрашивание тучных клеток от 8-14 тучных клеток, которые окрасились в фиолетовый цвет, ядра множественные с базофильно-зернистой цитоплазмой, контуры не четкие с звездчатой структурой. Паренхима органа окрашена в голубой цвет и имеет отек ткани .Такое количество тучных клеток свидетельствует о том, что патофизиологические процессы и воспалительно-аллергические реакции происходят в этом организме интенсивно.(Рис.7)

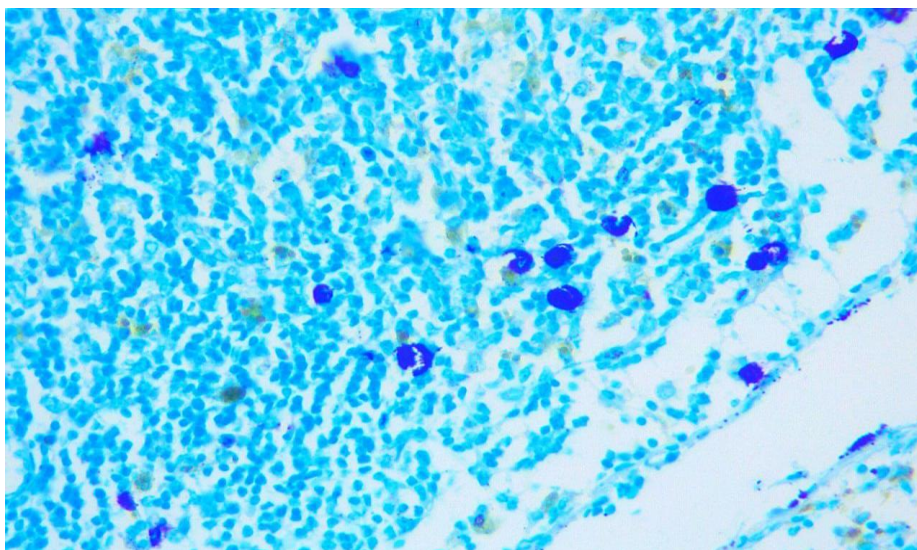


Рис.6 Тимус крыс 1 мес возраста экспериментальная группа.

1.Тучные клетки. 2.трабекула тимуса.3.парнхима органа. Окрашивание Толуидиновый синий. Об 10x20.

Гистохимическая реакция с окрашиванием толуидиновый синий ткани тимуса 3 месячной крысы в контрольной группе, показало что ткань тимуса окрашена в голубой цвет. В паренхиме органа присутствуют большие гранулярные тучные клетки 4-6 с умеренной зернистостью цитоплазмы,ядра овальной формы ,поверхность клеток неровная со звездчатой мембраной .

В рисунке 5.1.3 изображен тимус крыс в 3 месячном возрасте контрольная группа с наличием тучных клеток.

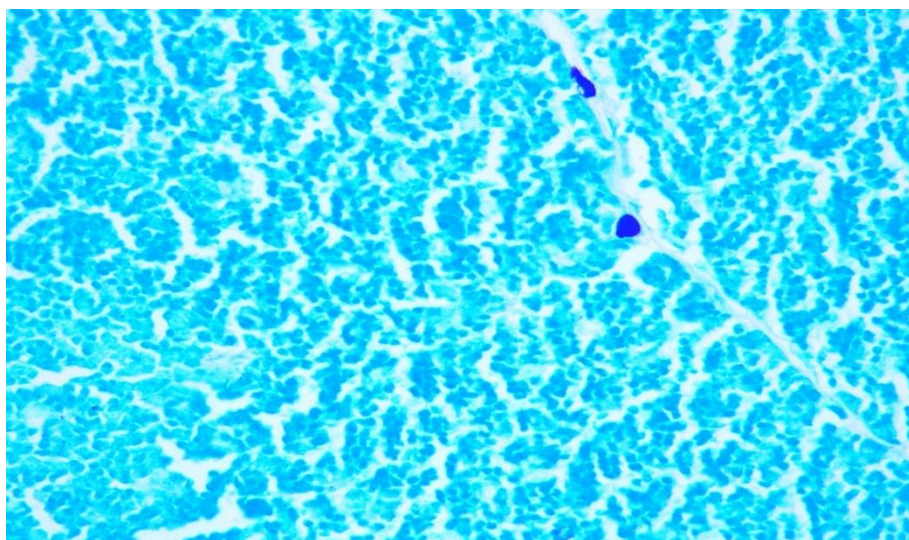


Рис. 7 Тимус крыс в 3 месячном возрасте контрольная группа .

в контрольной группе. Методика: окрашивание толуидиновый синий. Об.20 ок.40

Крысы 3-х месячного возраста в экспериментальной группе толуидиновый синий с выявлением тучных клеток при гистохимической реакции. Паренхима ткани окрашена в голубой цвет, тучные гранулярные клетки с интенсивным окрашиванием, количество гранулярных тучных клеток от 10-18 в одном поле зрения. В основном расположены по периферии ткани с базофильно зернистостью цитоплазмы.(Рис.8)

С окрашиванием толуидиновый синий ткань тимуса в 6 месячном возрасте контрольной группы показало что количество тучных клеток намного меньше чем в экспериментальной группе. Тучные клетки 3-5 расположены хаотично под капсулой тимуса в основном в трабекулярной зоне, структура их разная, ядра не правильно овальной формы с базофильно зернистой цитоплазмой по периферии клеток видны мелкие гранулы.

В рисунке 9 изображено окраска толуидиновый синий в ткани тимуса и количество тучных клеток 6 месячного возраста крыс контрольной группы.

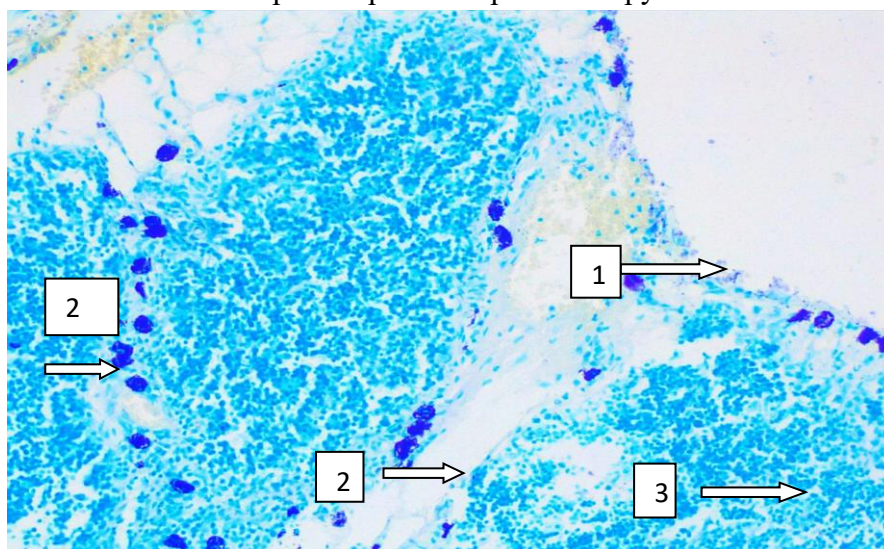


Рис.8 Кортикальная зона тимуса крыс 3 месячного возраста в экспериментальной группе при отравлении ЭН: 1. Капсула тимуса 2.Тучные клетки . 3.Паренхима тимуса.

Методика: окрашивание толуидиновым синим тучных клеток. Об.10хок.20

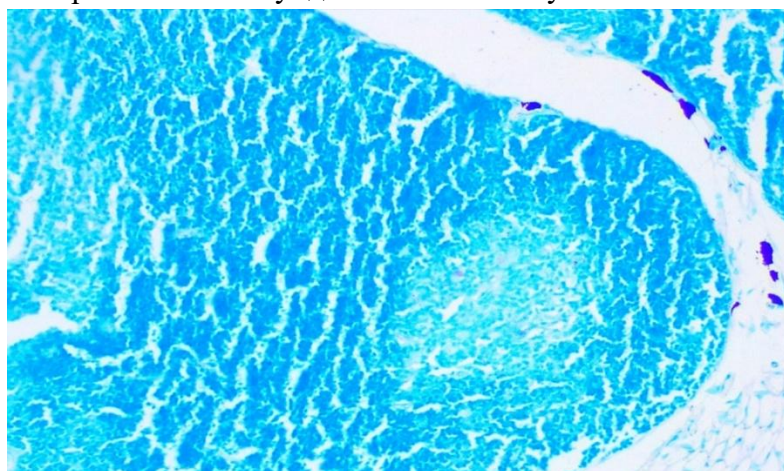


Рис.9 Ткань тимуса, количество тучных клеток 6 месячного возраста крыс контрольной группы. 1. Капсула тимуса 2.Тучные клетки . 3.Паренхима тимуса.

Окраска толуидиновый синий. Об.10хок.20

Тучные клетки при окрашивании толуидиновым синим, выявление в 6 месячном возрасте тимуса крыс. Данные полученные при гистохимическом исследовании, количество тучных клеток составляет в среднем от 12-20 в одном поле зрения, их структура значительно меняется цитоплазма, которых рассеянно увеличена в объеме имеет форму конуса с мелкими ядрышками и базофильной зернистостью цитоплазмы. (Рис.10)

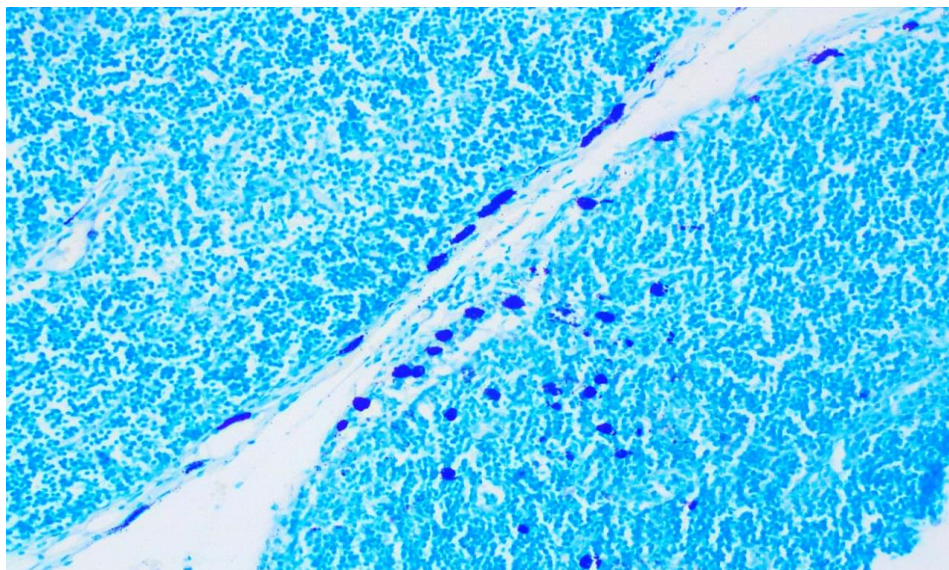


Рис.10 Кортикальная зона тимуса крыс 6 месячного возраста в экспериментальной группе при отравлении ЭН. Методика: окрашивание толуидиновым синим тучных клеток. Об.10хок.20

Комбинация иммуногистохимических, гистохимических исследований при воздействии ЭН на центральный орган иммуногенеза – тимус позволило выявить ряд патологических и физиологических процессов в данной ткани, которые могут быть использованы для выявления иммунных процессов протекающих в организме.

Заключение

Употребление энергетического напитка в постнатальном онтогенезе оказывает негативное влияние на тимус крыс, приводя к структурным и функциональным нарушениям. Эти изменения могут ослаблять иммунную систему и повышать риск развития иммунодефицитных состояний. Полученные данные подчеркивают необходимость дальнейших исследований влияния энергетических напитков на здоровье молодых организмов. Гистохимические подходы к оценке регуляции тучных клеток ткани тимуса в контрольной и экспериментальной группе были оценены как: в контрольной группе количество тучных клеток колеблется от 3-9 в одном поле зрения и структурная гранулярность их была сохранена, а в группе эксперимента количество тучных клеток резко возросло и достигла цифр от 8-20 в одном поле зрения, структура тучных клеток была нарушена и возросла зернистость в цитоплазме. В 3 месячном

возрасте увеличение тучных клеток 24,4 % , а в 6 месячном возрасте 40,8% в экспериментальной группе с ЭН.

Список использованной литературы

1. Ильясов А.С, Рахмонова К.Э Строение тимуса в периоде позднего постнатального онтогенеза и его изменения при воздействии энергетического напитка NDM Новый день в медицине 2024 (6), стр 93-100.
2. Ilyasov A.S, Rakhmanova K.E The Structure Of The Rat Thymus During Late Postnatal Ontogenesis And Its Changes When Exposed To An Energy Drink. Texas Journal of Medical Science ISSN NO: 2770-2936 <https://zienjournals.com> July 2024 (22-28)
3. Rakhmanova K.E, Ilyasov A.S MODERN IDEAS ABOUT ENERGY DRINKS AND THEIR EFFECTS ON THE HUMAN BODY AND ANIMALS World Bulletin of Public Health (WBPH) Available Online at: <https://www.scholarexpress.net> Volume-36, July 2024 ISSN: 2749-3644
- Ibrahim NK, Iftikhar R. Energy drinks: Getting wings but at what health cost? Pak J Med Sci. Iraqi Journal of Veterinary Sciences, Vol. 36, No. 1, 2022 (111-116)
- Zusconi S., Вольпато С., Адинольфи Ф., Гандини Э., Джентиле Э., Лои А. и др. Сбор данных о потреблении энергетических напитков конкретными группами потребителей. Внешний научный отчет для Европейского органа по безопасности пищевых продуктов. 2013/ 51(7), 557–565. doi:10.3109/15563650.2013.820311
- Bailey RL, Saldanha LG, Gahche JJ, Dwyer JT. Оценка потребления кофеина в энергетических напитках и пищевых добавках в Соединенных Штатах. Обзоры питания. 2014;72 (дополнение 1): 9-13. doi: 10.1111/nure.12138
7. Reissig CJ, Strain EC, Griffiths RR. Caffeinated energy drinks—a growing problem. Drug and alcohol dependence. 2009;99:1–10. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2008.08.001.
8. Kaur, S., Christian, H., Cooper, M. N., Francis, J., Allen, K., & Trapp, G. (2020). Consumption of energy drinks is associated with depression, anxiety, and stress in young adult males: Evidence from a longitudinal cohort study. Depression and Anxiety, 37(11), 1089-1098. <https://doi.org/10.1002/da.23090>
9. Alsunni AA, Badar A. Energy drinks consumption pattern, perceived benefits and associated adverse effects amongst students of University of Dammam, Saudi Arabia. J Ayub Med Coll Abbottabad. 2011 Jul-Sep;23(3):3–9.
10. Alsunni AA. ARE ENERGY DRINKS PHYSIOLOGICAL? Pak J Physiol. 2012;7(1):44–49
11. Kim SY, Sim S, Choi HG. High stress, lack of sleep, low school performance, and suicide attempts are associated with high energy drink intake in adolescents. PLoS One. 2017;12(11):e0187759.
12. Kozhabek, L. (2022). The dangers of energy drinks to the health of young people. International Journal of Health Sciences, 6(S4), 4078–4083. <https://doi.org/10.53730/ijhs.v6nS4.9035>

-
13. Lévy, S., Santini, L., Capucci, A., Oto, A., Santomauro, M., Riganti, C., Cappato, R. (2019). European Cardiac Arrhythmia Society Statement on the cardiovascular events associated with the use or abuse of energy drinks. *Journal of Interventional Cardiac Electrophysiology*. doi:10.1007/s10840-019-00610-2
 14. Li P Mandilaras, G.; Jakob, A.; Dalla-Pozza, R.; Haas, N.A.; Oberhoffer, F.S. Energy Drinks and Their Acute Effects on Arterial Stiffness in Healthy Children and Teenagers: A Randomized Trial. *J. Clin. Med.* 2022, 11, 2087. <https://doi.org/10.3390/jcm11082087>.