

## СТРУКТУРНЫЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ЖЕЛУДКА КРЫС ЮВЕНИЛЬНОГО ВОЗРАСТА НА ФОНЕ РЕГУЛЯРНОГО ВВЕДЕНИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО НАПИТКА

**Никитина О. В., Кутя С. А., Кривенцов М. А.**

Кафедра нормальной анатомии, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», 295051, бульвар Ленина 5/7, Симферополь, Россия

**Для корреспонденции:** Кутя Сергей Анатольевич, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой нормальной анатомии Медицинской академии имени С. И. Георгиевского, ФГАОУ ВО «КФУ им.В. И. Вернадского», e-mail: sergei\_kutya@mail.ru

**For correspondence:** Sergey A. Kutia, MD, Department of Human Anatomy, Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU, e-mail: sergei\_kutya@mail.ru

### Information about authors:

**Nikitina O. V.**, <https://orcid.org/0000-0002-8688-1608>

**Kutia S. A.**, <http://orcid.org/0000-0002-1145-4644>

**Kriventsov M. A.**, <http://orcid.org/0000-0001-5193-4311>

### РЕЗЮМЕ

В настоящее время энергетические напитки имеют огромную популярность, особенно среди молодежи. Хорошо изучено их негативное влияние на центральную нервную систему, сердечно-сосудистую систему и на некоторые органы пищеварительной системы. Большой практический интерес представляет изучение комплексного влияния энергетических напитков на желудочно-кишечный тракт, и, в частности, на желудок при регулярном, длительном употреблении энергетиков, а также при их употреблении на фоне физической нагрузки, в связи с популярностью употребления энергетиков во время занятий спортом. Целью исследования было установить особенности структурных изменений в тканях желудка крыс при употреблении энергетических напитков с дополнительной физической нагрузкой и без нее. Эксперимент был проведен на 54 двухмесячных самцах крыс линии Вистар. Животным экспериментальных групп ежедневно на протяжении 10, 30 и 60 дней интрагастрально вводили энергетический напиток в объеме 10 мл/кг. Часть из этих животных дополнительно подвергались физической нагрузке, моделируемой на тредбане. Контрольной группе животных вводили дистиллированную воду в таком же объеме. В результате проведенного гистологического описательного анализа какие-либо значительные структурные изменения слизистой оболочки желудка в группе крыс, которым вводился энергетический напиток в течение 10 дней, по сравнению с контрольной группой выявлены не были. Введение энергетического напитка в течение 30 и 60 дней приводит к появлению дегенеративно-некротических и воспалительных изменений в желудке, а также повышению его кислотопродуцирующей и слизиобразующей функции. В группе животных с моделированием физической нагрузки на фоне употребления энергетика изменения аналогичны по своей направленности и выраженности преобразованиям, выявленным в группе крыс без дополнительной физической нагрузки.

**Ключевые слова:** желудок, морфология, энергетический напиток, физическая нагрузка, крысы

### STRUCTURAL TRANSFORMATIONS OF THE STOMACH OF JUVENILE RATS AFTER REGULAR ADMINISTRATION OF AN ENERGY DRINK

**Nikitina O. V., Kutia S. A., Kriventsov M. A.**

Medical Academy named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

### SUMMARY

Nowadays energy drinks are very popular, especially among young people. Their adverse effect on the central nervous system, cardiovascular system and on some organs of the digestive system is well studied. Of great practical interest is the study of the complex effect of energy drinks on the gastrointestinal tract and, in particular, on the stomach during regular, long-term consumption of energy drinks, as well as when they are consumed together with physical activity, due to the popularity of energy drink consumption during sports activities. The aim of the study was to establish the peculiarities of structural changes in the stomach tissues of rats when energy drinks are consumed with and without additional physical exertion. The experiment was performed on 54 two-month-old male Wistar rats. Animals of the experimental groups daily for 10, 30 and 60 days received intragastrically with 10 ml/kg energy drink. Some of these animals were additionally subjected to physical load simulated on a treadmill. The control group of animals received distilled water in the same volume. Histological descriptive analysis revealed no significant structural changes in the gastric mucosa in the group of rats administered the energy drink for 10 days compared with the control group. Administration of the energy drink for 30 and 60 days leads to the appearance of degenerative-necrotic and inflammatory changes in the stomach, as well as an increase in its acid-producing and mucus-forming function. In the group of animals with simulated physical load together with energy drink consumption, the changes are similar in their direction and expression to those found in the group of rats without additional physical load.

**Key words:** stomach, morphology, energy drink, physical load, rats.

Энергетический напиток (энерготоник) – продукт, обладающий возбуждающим эффектом на центральную нервную систему, реализующимся за счет комплекса содержащихся в нем веществ. Его употребление приводит к появлению ощущения бодрости, повышению работоспособности и двигательной активности. Согласно статистическим данным Минздрава РФ, восемь из десяти подростков в возрасте от 13 до 17 лет хотя бы раз в жизни пили энергетик, а каждый третий употреблял их регулярно [1]. Производители энергетических напитков, ссылаясь на собственные исследования, утверждают, что употребление энергетиков не несет в себе вред для здоровья человека. Однако данные многих клинических наблюдений свидетельствуют об обратном [2]. Задokumentировано негативное влияние энергетических напитков на центральную нервную [3; 4], сердечно-сосудистую системы [5]. Имеются данные, но несколько более фрагментарные, о неблагоприятном воздействии энергетиков на мочевую систему [6; 7], органы пищеварительной системы [8; 9; 10]. Большой практический интерес представляет изучение влияния энергетических напитков на желудочно-кишечный тракт, и, в частности, на желудок. При этом имеющиеся в литературе данные в отношении изменений желудка на фоне употребления энергетических напитков являются неполными и несистематизированными. Кроме того, в связи с популярностью употребления энергетиков во время занятий спортом, большое значение имеет изучение последствий систематического употребления энергетических напитков на фоне физической нагрузки.

Цель исследования – установить особенности структурных изменений желудка крыс при употреблении энергетических напитков на фоне дополнительной физической нагрузки и без нее.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 54 двухмесячных самцах белых крыс линии Вистар. Животные были распределены на три группы (по 18 крыс в каждой группе): 1) контрольная группа животных, которым ежедневно интрагастрально вводили дистиллированную воду в объеме 10 мл/кг; 2) 1-я экспериментальная группа – животные, которые ежедневно получали энергетический напиток «TORNADO Energy» путем интрагастрального введения в объеме 10 мл/кг; 3) 2-я экспериментальная группа – животные с ежедневной дополнительной физической нагрузкой (бег на тредбане в течение 10 минут, ежедневно) в сочетании с ежедневным введением энергетического напитка в аналогичном объеме. Животные каждой группы были разделены на подгруппы в зависимости от

кратности введения энергетического напитка: 10, 30, 60 дней (по 6 крыс в каждой подгруппе). Из эксперимента крыс выводили путем декапитации под эфирным наркозом.

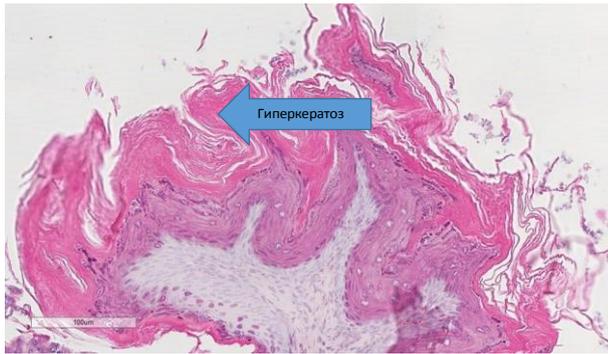
После проведения макроскопического описания и органографии тангенциально вырезали кусочек желудка, охватывающий все отделы органа. После фиксации в нейтральном формалине материал дегидратировали в автоматическом гистопроцессоре Logos (Mielstone, Италия), заливали в парафиновые блоки и изготавливали срезы толщиной 4 мкм. Полученные препараты окрашивали гематоксилином и эозином. Полученные гистологические препараты переводили в цифровой формат с использованием сканера препаратов Aperio CS2 (Leica Biosystems, Германия) с последующей визуализацией с использованием программного обеспечения Aperio Image Scope. На основании полученных микропрепаратов проводили описательный анализ различных отделов желудка крыс.

Исследования проводились в гистологической лаборатории с иммуногистохимией и электронной микроскопией Центральной научно-исследовательской лаборатории Медицинской Академии имени С.И. Георгиевского (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского».

## РЕЗУЛЬТАТЫ

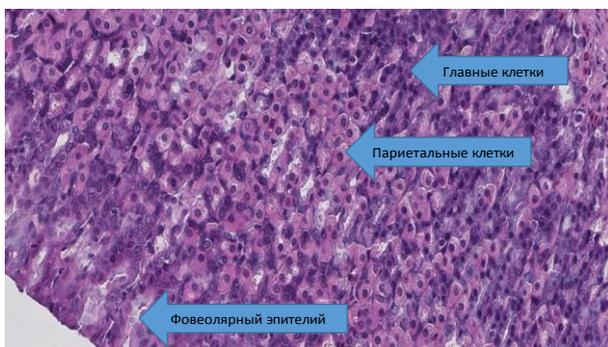
В результате проведенного гистологического описательного анализа какие-либо значительные структурные изменения слизистой оболочки желудка в группе крыс, которым вводили энергетический напиток в течение 10 суток, по сравнению с контрольной группой крыс, отсутствовали.

Результаты исследования в группе крыс, которым вводили энергетический напиток в течение 30 и 60 дней, показали, что, как в безжелезистой (проксимальной части желудка крыс), так и в железистой части (включающей в себя кардиальный отдел, тело, антральный и пилорический отделы) в слизистой оболочке развиваются деструктивные изменения поверхностного эпителия. Слизистая оболочки отечна и разрыхлена, в покровном эпителии присутствуют выраженные дегенеративно-некротические изменения, большинство клеток десквамированы. В области безжелезистой части желудка, выстланной многослойным плоским ороговевающим эпителием, наблюдаются явления гиперкератоза (рис. 1) и акантоза. Данные изменения у животных экспериментальной группы можно расценивать в качестве проявления приспособительного механизма в ответ на действие внешнего повреждающего фактора (компонентов энергетического напитка).



**Рис. 1.** Многослойный плоский ороговевающий эпителий безжелезистой части желудка с явлениями гиперкератоза (30-кратное введение энергетика). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200.

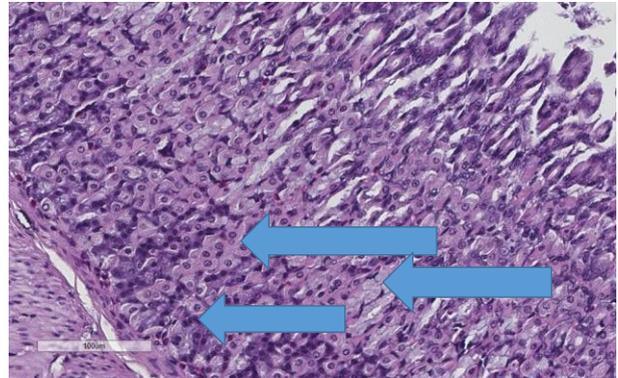
В слизистой оболочке тела желудка у животных наблюдается визуальное увеличение количества париетальных клеток в структуре желудочных желез, с соответствующим уменьшением количества главных клеток, что функционально может означать значительное повышение концентрации соляной кислоты (рис. 2, рис.3) и сдвиг pH желудочного сока в кислую сторону. В некоторых участках преобладание париетальных клетках в железах тела желудка было настолько значительным, что даже в области дна подобных желез обнаруживались практически исключительно париетальные клетки.



**Рис. 2.** Железистая часть желудка (тело желудка). Большая часть желез сформирована париетальными клетками (30-кратное введение энергетика). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200.

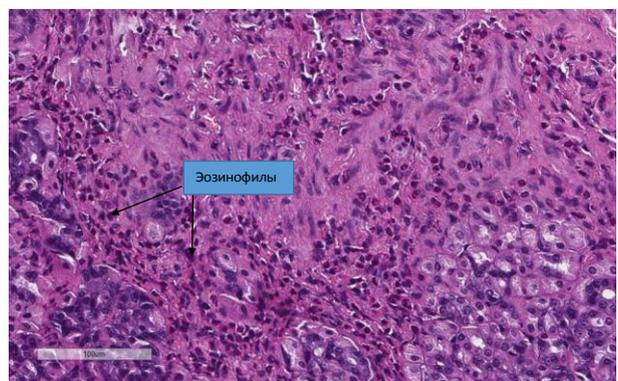
В ряде случаев железистые клетки в теле желудка (главные и париетальные клетки желудочных желез) характеризуются признаками вакуольной дистрофии. Нередко встречаются двуядерные формы клеток, что может указывать на развитие компенсаторно-приспособительных реакций, опять же в ответ на действие повреждающего фактора (компонентов энергетического напитка). Также в области тела желудка на-

блюдается увеличение количества добавочных клеток, продуцирующих слизь, что представляет собой защитный механизм и может косвенно свидетельствовать о повышении кислотопродуцирующей функции слизистой оболочки желудка (рис. 3).



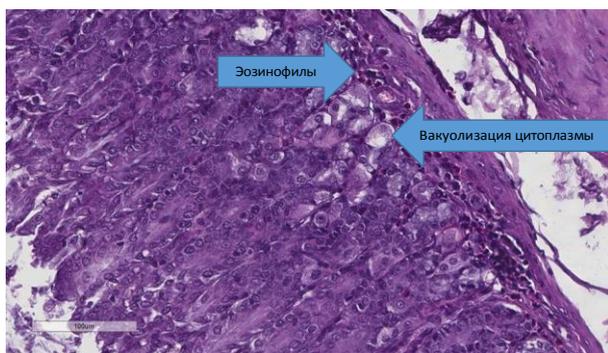
**Рис. 3.** Железистая часть желудка (тело желудка). Преобладание париетальных клеток с относительно небольшим количеством главных клеток и увеличением количества добавочных клеток с признаками активного слизеобразования (30-кратное введение энергетика). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200.

В собственной соединительнотканной пластинке слизистой оболочки и местами в подслизистой оболочке желудка наблюдается присутствие значительного количества эозинофилов, что указывает на наличие аллергического компонента развивающегося воспалительного ответа. Воспалительный инфильтрат локализуется преимущественно в собственной соединительнотканной пластинке слизистой оболочки, а также в области дна желез.(рис.4). Лишь в редких случаях клетки воспалительного инфильтрата обнаруживаются в более поверхностных отделах слизистой оболочки.



**Рис. 4.** Железистая часть желудка (тело желудка). Выраженная воспалительная инфильтрация с преобладанием эозинофилов в подслизистой оболочке (30-кратное введение энергетика). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200.

Наиболее выраженные изменения при проведении гистологического описательного анализа выявляются в слизистой оболочке пилорического отдела желудка (рис. 5). Фовеолярный эпителий сохранен лишь в небольшой части желез. В области дна слизистых желез отмечается умеренное количество клеток лимфоидного ряда, а также незначительное количество эозинофилов. Присутствуют единичные интраэпителиальные лимфоциты, указывающие на степень активности воспалительного процесса. Помимо этого, отмечается значительная пролиферативная активность железистого эпителия, проявляющаяся в наличии многочисленных фигур митоза.



**Рис. 5. Железистая часть желудка (пилорический отдел). Фовеолярный эпителий слущен. Вакуолизация цитоплазмы железистых клеток. Воспалительная инфильтрация за счет клеток лимфоидного ряда и эозинофилов (30-кратное введение энергетика). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x200**

В группе животных с моделированием физической нагрузки на фоне употребления энергетика (2-я экспериментальная группа) обнаружены изменения аналогичной направленности и выраженности, что и у крыс 1-й экспериментальной группы (с регулярным введением энергетика без дополнительной физической нагрузки).

### ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам проведенного описательного гистологического анализа показано, что ежедневное введение энергетика на протяжении 10 дней не приводит к значительным структурным изменениям в тканях желудка. Увеличение кратности употребления энергетика до 30-ти и 60-ти приводит к появлению дегенеративно-некротических и воспалительных изменений в желудке, в том числе с развитием аллергического компонента, а также повышению его кислотопродуцирующей и слизеобразующей функции.

Полученные нами данные подтверждают результаты Maini R. et al. [11], также наблюдавших увеличение выработки слизи железами желудка крыс при введении им энергетического напитка

на протяжении 8 недель, и дополняют данные исследования Ayuob N., ElBeshbeishy R. [10], выявивших, что 4-недельное введение напитка «Power Horse» приводит к нарушению антиоксидантной системы, дегенеративным изменениям и индукции апоптоза в слизистой оболочке дна желудка крыс.

В целом, негативное воздействие энергетического напитка, использованного в работе, связано с его основными ингредиентами – кофеином и таурином. Действие кофеина на желудок может опосредоваться следующими механизмами: нарушение метаболизма оксида азота [12]; блокирование IP3 сигнального пути [13]; ингибирование холинергической иннервации [14]. Второй компонент, таурин, обладает способностью усиливать секрецию соляной кислоты с одновременным повышением слизиобразующей функции желудка [15].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенное исследование позволяет сделать вывод, что при длительном употреблении энергетических напитков происходит ряд изменений в слизистой оболочке желудка, преимущественно в его железистой части. С одной стороны, данные преобразования заключаются в повреждении клеточных и тканевых элементов за счет непосредственного негативного воздействия компонентов энергетического напитка, с последующим развитием воспалительного ответа с преобладанием аллергического компонента. С другой стороны, в ответ на повреждающее действие компонентов энергетического напитка, в слизистой оболочке желудка развиваются компенсаторно-приспособительные реакции, направленные на поддержание или восстановление нарушенной функции и предотвращение дальнейшего негативного специфического воздействия некоторых компонентов энергетика.

**Финансирование.** Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках на-учного проекта № 20-315-90082

**Funding.** The reported study was funded by RFBR, project number 20-315-90082

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors have no conflict of interests to declare.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Шалыгин Л. Д., Еганян Р. А. Энергетические напитки - реальная опасность для здоровья детей, подростков, молодежи и взрослого населения.

Часть 1. Состав энергетических напитков и влияние на организм их отдельных компонентов Профилактическая медицина. 2016;19(1):56-63. doi:10.17116/PROFMED201619156-63.

2. Трофимов Н. С., Кутя С. А., Кривенцов М. А., Мороз Г. А., Гафарова Э. А., Эннанов Э. Х., Никитина О. В., Алексеев М. А., Андреева О. В. Влияние энергетических напитков на здоровье человека. Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины 2019;9(3):75-81.

3. Cerimele J. M., Stern A. P., Jutras-Aswad D. Psychosis following excessive ingestion of energy drinks in a patient with schizophrenia. *Am. J. Psychiatry.* 2010;167:353. doi:10.1176/APPI.AJP.2009.09101456.

4. Machado-Vieira R., Viale C.I., Kapczinski F. Mania associated with an energy drink: The possible role of caffeine, taurine, and inositol. *Canadian Journal of Psychiatry.* 2001;46(5):454-455. doi:10.1177/070674370104600524.

5. Оплетаев В. Ф., Деткова Е. А. Влияние энергетических напитков на сердечно-сосудистую систему подростков. *Вятский медицинский вестник* 2009;1:103-104.

6. Greene E., Oman K., Lefler M. Energy drink-induced acute kidney injury. *Ann. Pharmacother.* 2014;48(10):1366-1370. doi:10.1177/1060028014541997.47.

7. Kelsey D., Berry A.J., Swain R.A. A Case of Psychosis and Renal Failure Associated with Excessive Energy Drink Consumption. *Case Reports in Psychiatry.* 2019;3954161. doi:10.1155/2019/3954161.

8. Kutia S. A., Kriventsov M. A., Moroz G. A., Gafarova E. A., Trofimov N. S. Implications of energy drink consumption for hepatic structural and functional changes: a review. *Nutrition and Food Science.* 2019;50(5):937-953. doi:10.1108/NFS-08-2019-0260.

9. Amira A., Sadika M. Effect of a caffeinated energy drink and its withdrawal on the submandibular salivary gland of adult male albino rats: A histological and immunohistochemical study. *Al-Azhar Dental Journal.* 2016;3(1):55-60. doi:10.21608/EJH.2018.7518.

10. Ayuob N., ElBeshbeishy R. Impact of an energy drink on the structure of stomach and pancreas of albino rat: can Omega-3 provide a protection? *PLOS ONE.* 2016;11(2):1-15. doi:10.1371/journal.pone.0149191.

11. Maini R., Wawryk-Gawda E., Sławiński M., Halczuk P., Cichacz-Kwiatkowska B., Jodłowska-Jędrych B. Overproduction of gastric mucus as a mechanism of stomach's mucosa protection during energy drinks consumption in Wistar rats. *Postepy Hig Med Dosw (online).* 2018;72:376-380. doi:10.5604/01.3001.0011.8259.

12. Cibicek N., Zivna H., Cibicek J., Cermakova E., Vorisek V., Malačkova J., Micuda S., Palicka V. Caffeine does not modulate nutritive blood flow to rat gastric submucosa - a microdialysis study. *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub.,* 2008;152:83-90. doi:10.5507/bp.2008.013.

13. Hamada E., Nakajima T., Hata Y., Hazama H., Iwasawa K., Takahashi M., Ota S., Omata M. Effect

of caffeine on mucus secretion and agonist-dependent Ca<sup>2+</sup> mobilization in human gastric mucus secreting cells. *Biochim. Biophys. Acta,* 1997;1356:198-206. doi:10.1016/S0167-4889(96)00177-2.

14. Van Nieuwenhoven M. A., Brummer R. M., Brouns F. Gastrointestinal function during exercise: comparison of water, sports drink, and sports drink with caffeine. *J. Appl. Physiol.* 2000;89:1079-1085. doi:10.1152/jappl.2000.89.3.1079.

15. Huang K. H., Chang C. C., Ho J. D., Lu R. H., Tsai L. H. Role of taurine on acid secretion in the rat stomach. *J. Biomed. Sci.* 2011;18:11. doi:10.1186/1423-0127-18-11.

## REFERENCES

1. Shalygin L. D., Eganyan R. A. Energy drinks are a real danger to the health of children, adolescents, young people, and adult population. Part 1. Composition of energy drinks and the effect of their individual components on the organism. *Preventive medicine,* 2016;19(1):56-63. doi:10.17116/PROFMED201619156-63. (In Russ.).

2. Trofimov N. S., Kutia S. A., Kriventsov M. A., Moroz G. A., Gafarova E. A., Ennanov E. K., Nikitina O. V., Alekseyev M. A., Andreyeva O. V. Energy drinks and their impact to the human health. *Crimean journal of experimental and clinical medicine,* 2019;9(3):75-81. (In Russ.).

3. Cerimele J. M., Stern A. P., Jutras-Aswad D. Psychosis following excessive ingestion of energy drinks in a patient with schizophrenia. *Am. J. Psychiatry.* 2010;167:353. doi:10.1176/APPI.AJP.2009.09101456.

4. Machado-Vieira R., Viale C. I., Kapczinski F. Mania associated with an energy drink: The possible role of caffeine, taurine, and inositol. *Canadian Journal of Psychiatry.* 2001;46(5):454-455. doi:10.1177/070674370104600524

5. Opletaev V. F., Detcova E. A. The effect of energy drinks on the cardiovascular system of adolescents. *Vyatka Medical Bulletin.* 2009;1:103-104. (In Russ.).

6. Greene E., Oman K., Lefler M. Energy drink-induced acute kidney injury. *Ann. Pharmacother.* 2014;48(10):1366-1370. DOI: 10.1177/1060028014541997.47.

7. Kelsey D., Berry A.J., Swain R.A. A Case of Psychosis and Renal Failure Associated with Excessive Energy Drink Consumption. *Case Reports in Psychiatry.* 2019;3954161. doi:10.1155/2019/3954161.

8. Kutia S. A., Kriventsov M. A., Moroz G. A., Gafarova E. A., Trofimov N. S. Implications of energy drink consumption for hepatic structural and functional changes: a review. *Nutrition and Food Science.* 2019;50(5):937-953. doi:10.1108/NFS-08-2019-0260.

9. Amira A., Sadika M. Effect of a caffeinated energy drink and its withdrawal on the submandibular salivary gland of adult male albino rats: A histological and immunohistochemical study. *Al-Azhar Dental Journal.* 2016;3(1):55-60. doi:10.21608/EJH.2018.7518.

10. Ayuob N., ElBeshbeishy R. Impact of an energy drink on the structure of stomach and pancreas of albino

- rat: can Omega-3 provide a protection? PLOS ONE. 2016;11(2):1-15. DOI: 10.1371/journal.pone.0149191.
1. Maini R., Wawryk-Gawda E., Sławiński M., Halczuk P., Cichacz-Kwiatkowska B., Jodłowska-Jędrych B. Overproduction of gastric mucus as a mechanism of stomach's mucosa protection during energy drinks consumption in Wistar rats. *Postepy Hig Med Dosw (online)*, 2018;72:376-380. doi:10.5604/01.3001.0011.8259.
    2. Cibicek N., Zivna H., Cibicek J., Cermakova E., Vorisek V., Malačkova J., Micuda S., Palicka V. Caffeine does not modulate nutritive blood flow to rat gastric submucosa - a microdialysis study. *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub.* 2008;152:83-90. doi:10.5507/bp.2008.013.
    3. Hamada E., Nakajima T., Hata Y., Hazama H., Iwasawa K., Takahashi M., Ota S., Omata M. Effect of caffeine on mucus secretion and agonist-dependent  $Ca^{2+}$  mobilization in human gastric mucus secreting cells. *Biochim. Biophys. Acta.* 1997;1356:198-206. doi:10.1016/S0167-4889(96)00177-2.
    4. Van Nieuwenhoven M. A., Brummer R. M., Brouns F. Gastroin-testinal function during exercise: comparison of water, sports drink, and sports drink with caffeine. *J. Appl. Physiol.* 2000;89:1079-1085. DOI: 10.1152/jappl.2000.89.3.1079.
    5. Huang K. H., Chang C. C., Ho J. D., Lu R. H., Tsai L. H. Role of tau-rine on acid secretion in the rat stomach. *J. Biomed. Sci.* 2011;18:11. doi:10.1186/1423-0127-18-11.

