УДК 519.443:(613.648.4+613.37

ЛУКЬЯНЦЕВА Г.В., ЛУЗИН В.И., МОРОЗОВ В.Н.
Национальный университет физического воспитания и спорта Украины, г. Киев
ГУ «Луганский государственный медицинский университет»

ВЛИЯНИЕ 60-ДНЕВНОГО ВВЕДЕНИЯ БЕНЗОАТА НАТРИЯ НА ПРОЧНОСТНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОСТЕЙ СКЕЛЕТА БЕЛЫХ КРЫС В ПЕРИОД РЕАДАПТАЦИИ

Резюме. *Внутрижелудочное введение бензоата натрия в течение 2 месяцев у половозрелых белых крыс сопровождается снижением прочности плечевых костей, выраженность которого прямо пропорционально зависит от дозировки вводимого препарата.*
Ключевые слова: *крыса, кости скелета, бензоат натрия, прочность.*

Введение

В последнее время производство и использование пищевых консервантов в странах мира постоянно возрастают с целью увеличения количества изготовляемой продукции и сроков ее хранения [1, 6].

Одним из наиболее применяемых консервантов в пищевой промышленности является бензоат натрия. Он используется при производстве мясных и рыбных продуктов, сладких газированных напитков, кетчупов, маргарина, плодово-ягодных изделий, соевых соусов, майонеза, деликатесов и др., а также в изготовлении косметики [6].

Кроме того, бензоат натрия используется в медицине для лечения шизофрении и печеночной энцефалопатии [7, 9].

В экспериментальных и клинических исследованиях у бензоата натрия выявлена способность вызывать повреждение молекулы митохондриальной ДНК эукариотических клеток и инициировать выработку активных форм кислорода и, соответственно, свободных радикалов [10]. Поэтому в связи с широким использованием данной пищевой добавки в различных сферах жизнедеятельности человека является актуальным дальнейшее всестороннее и углубленное изучение ее влияния на организм.

Полное отсутствие сведений о влиянии длительного применения бензоата натрия на морфогенез костной системы диктует необходимость данного исследования.

Цель исследования: изучить в эксперименте прочность костей скелета половозрелых белых крыс после 60-дневного перорального введения бензоата натрия в различных дозах.

Статья является фрагментом научно-исследовательской работы ГУ «Луганский государственный медицинский университет» и Национального университета физического воспитания и спорта Украины «Морфогенез различных органов и систем организма при нанесении дефекта в большеберцовых костях после 60-дневного введения бензоата натрия либо тартразина» (№ государственной регистрации 0113U005755).

Материал и методы исследования

Представленное исследование проведено на 105 белых беспородных половозрелых крысах-самцах репродуктивного периода онтогенеза с исходной массой тела 200–210 г, взятых из вивария ГУ «Луганский государственный медицинский университет».

Содержание лабораторных крыс и манипуляции над ними осуществлялись в соответствии с правилами, установленными «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986) [8] и положениями закона Украины № 3477-IV от 21.02.2006 г. «О защите животных от жестокого обращения».

Подопытные животные были распределены на 3 группы: 1-ю группу составили контрольные животные, которым ежедневно в течение 60 дней при помощи желудочного зонда вводился 1 мл 0,9% изотонического раствора натрия хлорида (группа К). 2-ю и 3-ю группы составили крысы, которым ежедневно в течение 60 дней при помощи желудочного зонда вводился 1 мл бензоата натрия в дозировке 500 и 1000 мг/кг массы тела соответственно (группы Б1 и Б2).

Эксперимент проводился в летне-зимний период года. В ходе эксперимента крысы содержались в условиях вивария в пластиковых клетках, не более 6 особей в каждой. В помещении поддерживались постоянная температура (20–22 °С) и влажность воздуха (40–45 %). Эксперимент

© Лукьянцева Г.В., Лузин В.И., Морозов В.Н., 2014
© «Травма», 2014
© Заславский А.Ю., 2014

проводился с обязательным соблюдением циркадных ритмов. Животные имели свободный доступ к пище и питьевой воде [2]. В ходе эксперимента проводились наблюдения за динамикой массы тела крыс, их общим состоянием и поведением.

Бензоат натрия (производитель Eastman Chemical B.V., Нидерланды, расфасовано на КП КОР «Фармацевтическая фабрика», г. Киев, по заказу АТ «Эксимед») является порошком и относится к группе консервантов, использовался в дозах 500 и 1000 мг/кг массы тела.

Расчет дозировки вводимых препаратов производили с учетом рекомендаций Ю.Р. и Р.С. Рыболовлевых [5]. Перед введением вычисленная доза порошка бензоата натрия на одно животное растворялась в 1 мл 0,9% изотонического раствора натрия хлорида, и полученный раствор вводился крысам при помощи желудочного зонда 1 раз в сутки ежедневно в течение 60 дней утром с 7 до 8 часов. С учетом положительной динамики роста животных в конце каждой недели установленного срока производилась коррекция дозы вводимых пищевых добавок.

Сроки периода реадаптации составили 3, 10, 15, 24 и 45 дней, по истечении которых животных декапитировали под эфирным масочным наркозом.

Биомеханические характеристики плечевой кости определяли при изгибе на универсальной нагрузочной машине Р-0,5 со скоростью нагружения 0,25 мм/мин до разрушения. Использовали трехточечную модель нагружения. Рассчитывали удельную стрелу прогиба, разрушающий момент, предел прочности, модуль упругости и минимальную работу разрушения кости [3].

Полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [4].

Результаты исследования и их обсуждение

У животных контрольной группы (группа К) в ходе наблюдения механическая прочность плечевой кости постепенно увеличивалась. За период с 3-го по 45-й день наблюдения удельная стрела прогиба (величина обратно пропорциональная жесткости) уменьшилась с 5,79 ± ± 0,15 мкМ/Н до 4,18 ± 0,10 мкМ/Н. Остальные показатели, характеризующие механическую прочность плечевой кости, в ходе наблюдения увеличивались. А именно: разрушающий момент увеличился с 106,15 ± 1,23 НмМ до 141,47 ± 3,68 НмМ, предел прочности — с 115,87 ± 1,49 ГПа до 157,21 ± 3,67 ГПа, модуль упругости — с 4,96 ± 0,06 ГПа до 5,73 ± 0,09 ГПа, а минимальная работа разрушения плечевой кости — с 72,25 ± 1,77 мДж до 99,56 ± 2,30 мДж.

Полученные данные в целом совпадают с описанной в литературе возрастной динамикой прочности трубчатых костей у половозрелых интактных крыс и характеризуются все еще продолжающимся повышением прочностных характеристик костей в этот возрастной период.

Внутрижелудочное зондовое ежедневное введение бензоата натрия в дозировке 500 мг/кг массы тела подопытных животных в течение 60 дней (группа Б1) сопровождалось снижением механической прочности плечевых костей.

На 3-й день по окончании введения бензоата натрия в дозировке 500 мг/кг массы тела удельная стрела прогиба была больше значений группы К на 7,38 %, а разрушающий момент, предел прочности, модуль упругости и минимальная работа разрушения — меньше соответственно на 7,94; 6,39; 5,79 и 6,85 %.

Из этого следует, что прочность плечевых костей после введения бензоата натрия в дозировке 500 мг/кг массы тела в течение 60 дней снижается за счет всех физико-химических компонентов: качественных свойств и органического и минерального компонентов кости, а также прочностных свойств и материала, и конструкции.

Период реадаптации в группе Б1 характеризовался постепенным восстановлением прочности плечевых костей. При этом достоверные отличия от группы К регистрировались лишь до 15-го дня наблюдения.

Удельная стрела прогиба была больше контрольных значений на 10-й и 15-й день наблюдения — на 7,10 и 5,70 % соответственно, а разрушающий момент, предел прочности и модуль упругости — меньше соответственно на 7,40 и 4,52 %, на 6,09 и 5,49 % и на 6,24 и 4,78 %. Минимальная работа разрушения плечевой кости была меньше контрольных лишь на 15-й день наблюдения — на 4,99 %.

В том случае, когда внутрижелудочное зондовое введение бензоата натрия производили в дозировке 1000 мг/кг массы тела подопытных животных в течение 60 дней (группа Б2), также было выявлено снижение механической прочности плечевых костей, выраженное более значимо, чем в группе Б1.

По окончании воздействия условий группы Б2 нашего эксперимента на 3-й день наблюдения удельная стрела прогиба была больше аналогичных значений группы К на 8,80 %, а разрушающий момент, предел прочности, модуль упругости и минимальная работа разрушения — меньше соответственно на 9,64; 9,43; 9,59 и 9,15 %. Из этого следует, что прочность плечевых костей после 60-дневного воздействия условий группы Б2 так же, как и в группе Б1, снижалась за счет нарушения физико-химических свойств всех составляющих кости как органа.

Период реадаптации после воздействия условий группы Б2 характеризовался тем, что отклонения биомеханических характеристик плечевых костей до 15-го дня наблюдения сохранялись приблизительно на одном уровне, после чего отклонения постепенно сглаживались, но и на 45-й день наблюдения сохранялись достоверные отличия некоторых показателей от группы К.

Быстрее всего восстанавливались: удельная стрела прогиба, которая была больше значений группы К лишь на 10-й и 15-й день наблюдения — на 9,01 и 7,79 %, и модуль упругости, который в те же сроки был меньше контрольных значений на 7,71 и 6,69 %.

Из этого следует, что после воздействия условий группы Б2 в первую очередь восстанавливались показатели, характеризующие прочность кости, за счет качественного состояния органического компонента — и как материала (модуль упругости), и как конструкции (удельная стрела прогиба).

Несколько дольше восстанавливалась минимальная работа разрушения кости: ее значения были меньше значений

группы К с 10-го по 24-й день наблюдения — соответственно на 8,73, 8,04 и 6,92 %. При этом разрушающий момент и предел прочности были меньше контрольных показателей во все установленные сроки эксперимента соответственно на 9,68; 6,13; 6,39 и 7,40 % и на 8,93; 9,27; 7,97 и 6,08 %.

Значит, в наименьшей степени после окончания воздействия условий группы Б2 восстанавливается показатель, характеризующий качественное состояние кости как материала, за счет минерального компонента (предел прочности).

Полученные результаты могут объясняться следующим образом. Бензоат натрия при пероральном введении в тонкой кишке вступает в химическую реакцию с аскорбиновой кислотой, поступающей с кормом, и образует ароматический углеводород бензол. Последний вызывает прямое повреждение молекулы ДНК митохондрий, что приводит к нарушению синтеза АТФ в клетках организма вообще и в остеогенных клетках плечевой кости в частности [10], что сопровождается нарушением физиологического ремоделирования костной ткани, являющейся основным структурным компонентом костей, что и сказывается на их прочности.

Выводы

1. Внутрижелудочное введение бензоата натрия ежедневно в течение 2 месяцев у половозрелых белых крыс сопровождается снижением прочности плечевых костей, выраженность которого зависит от дозировки вводимого препарата.

2. Введение бензоата натрия в дозировке 1000 мг/кг массы тела подопытным животным сопровождается более значительными нарушениями прочности плечевых костей, чем при применении дозировки 500 мг/кг массы тела.

3. В период реадаптации после применения бензоата натрия достоверное снижение прочности плечевых костей в группе с использованием его дозы 500 мг/кг регистрировалось до 15-го дня, а в случае применения дозы 1000 мг/кг достоверные отклонения от контроля регистрировались и на 45-й день наблюдения.

Перспективы дальнейших исследований

В дальнейших исследованиях планируется обосновать возможности фармакологической коррекции изменений прочности костей скелета после длительного применения бензоата натрия. Можно также предположить, что полученные результаты обусловлены изменением гормонального фона организма, поэтому в перспективе планируется изучить морфологические особенности эндокринных желез, непосредственно регулирующих кальций-фосфорный обмен в организме (щитовидной и околощитовидных желез).

Список литературы

1. *Бибик Е.Ю. Анализ спектра пищевых добавок в продуктах питания / Е.Ю. Бибик, Э.А. Яровая // Український медичний альманах. — 2011. — Т. 14, № 2. — С. 20-22.*
2. *Западнюк В.Г. Лабораторные животные / Западнюк В.Г., Западнюк И.П., Захария Е.А. — К.: Вища школа, 1983. — 383 с.*
3. *Ковешников В.Г. Биомеханические методы исследования в функциональной морфологии трубчатых костей / В.Г. Ковешников, В.И. Лузин // Український морфологічний альманах. — 2003. — Т. 1, № 2. — С. 46-50.*
4. *Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. — Киев: Морион, 2001. — 210 с.*
5. *Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. — 1979. — Т. 247, № 6. — С. 1513-1516.*
6. *Сарафанова Л.А. Пищевые добавки: Энциклопедия / Л.А. Сарафанова. — 2-е изд. — СПб.: Гиорд, 2004. — 808 с.*
7. *Add-on treatment of benzoate for schizophrenia: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial of D-amino acid oxidase inhibitor / H.Y. Lane, C.H. Lin, M.F. Green [et al.] // JAMA Psychiatry. — 2013. — Vol. 70(12). — P. 1267-1275.*
8. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. — Strasbourg, 1986. — 52 p.*
9. *Pharmacotherapy for hepatic encephalopathy / P.V. Phongsamran, J.W. Kim, J. Cupo Abbott [et al.] // Drugs. — 2010. — Vol. 70(9). — P. 1131-1148.*
10. *Production of Benzene from Ascorbic Acid and Sodium Benzoate. A White Paper Produced by AIB International. — Manhattan, Kansas, 2006. — 4 p.*

Получено 16.04.14

Лук'янцева Г.В., Лузін В.І., Морозов В.М.
Національний університет фізичного виховання та спорту України, м. Київ
ДУ «Луганський державний медичний університет»

ВПЛИВ 60-ДЕННОГО ВВЕДЕННЯ БЕНЗОАТУ НАТРІЮ НА МІЦНІСНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ КІСТОК СКЕЛЕТА БІЛИХ ЩУРІВ У ПЕРІОД РЕАДАПТАЦІЇ

Резюме. Внутрішньошлункове введення бензоату натрію протягом 2 місяців у статевозрілих білих щурів супроводжується зниженням міцності плечових кісток, вираженість якого прямо пропорційно залежить від дозування препарату, що вводиться.

Ключові слова: щур, кістки скелета, бензоат натрію, міцність.

Lukyantseva G.V., Luzin V.I., Morozov V.N.
National University of Physical Education and Sport of Ukraine, Kyiv
State Institution «Lugansk State Medical University», Lugansk, Ukraine

EFFECT OF 60-DAY ADMINISTRATION OF SODIUM BENZOATE ON STRENGTH PROPERTIES OF SKELETAL BONES OF ALBINO RATS DURING READAPTATION

Summary. Intragastric administration of sodium benzoate for 2 months in mature albino rats is associated with reduced strength of humeral bones, the severity of which is positively related to the dosage of the drug administered.

Key words: rat, skeletal bones, sodium benzoate, strength.