

УДК: 519.443:[613.648.4+613.37

## Г.В. Лукьянцева ОСОБЕННОСТИ РОСТА КОСТЕЙ СКЕЛЕТА У БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ ДВУХМЕСЯЧНОГО УПОТРЕБЛЕНИЯ НАТРИЯ БЕНЗОАТА И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО КОРРЕКЦИИ

*Національний університет фізического виховання і спорту України*

**Лукьянцева Г.В.** Особенности роста костей скелета у белых крыс после двухмесячного употребления натрия бензоата и возможности его коррекции // Украинский морфологический альманах. – 2014. – Том 12, № 2. – С. 120-124.

В эксперименте на 175 половозрелых белых крысах установили, что внутрижелудочное введение натрия бензоата в дозировке 500 мг/кг и 1000 мг/кг массы тела в течение 2 месяцев сопровождается угнетением темпов продольного и аппозиционного роста костей скелета (плечевой, тазовой и третьего поясничного позвонка), выраженность которого прямопропорционально зависит от дозировки вводимого препарата. Восстановление темпов роста исследуемых костей после окончания воздействия условий эксперимента также сопровождалось дозозависимым эффектом. Введение мексидола в дозировке 50 мг/кг массы на фоне применения натрия бензоата в значительной мере сглаживало выявленные отклонения как непосредственно по окончании воздействия, так и в период реадaptации.

**Ключевые слова:** натрий бензоат, кости, рост, мексидол.

**Лукьянцева Г.В.** Особливості росту кісток скелета у білих щурів після двомісячного вживання натрію бензоату та можливості його корекції // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 2. – С. 120-124.

В експерименті на 175 статевозрілих білих щурах встановили, що внутрішньошлункове введення натрію бензоату в дозуванні 500 мг/кг і 1000 мг/кг маси тіла протягом 2 місяців у статевозрілих білих щурів супроводжується гальмуванням темпів поздовжнього та аппозиційного росту кісток скелету (плечової, кульшової, а також третього поперекового хребця), виразність якого прямопропорційно залежить від дозування препарату, що вводиться. Відновлення темпів росту досліджуваних кісток після закінчення впливу умов експерименту також супроводжувалося дозозалежним ефектом. Введення мексидола в дозуванні 50 мг/кг маси на тлі застосування натрію бензоату значною мірою згладжувало виявлені відхилення як безпосередньо після закінчення впливу, так й у період реадaptації.

**Ключові слова:** натрій бензоат, кістки, ріст, мексидол.

**Lukyantseva G.V.** Growth features of the skeletal bones in rats after 2-month intake of sodium benzoate and possibilities of correction of state // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 2. – С. 120-124.

From the experiment that involved 175 adult rats we have found that 2-months intragastric sodium benzoate in dosage of 500 mg and 1000 mg per kg of body weight results in inhibition of appositional and longitudinal growth of the skeletal bones (humerus, hipbone, and the third lumbar vertebra) which depends directly on dosage. Restoration of growth rate after drug discontinuation was also dose-dependent. Mexidol in dosage of 50 mg per kg of body weight during sodium benzoate administration reduced alterations significantly immediately after sodium benzoate discontinuation and during readaptation.

**Key words:** sodium benzoate, bones, growth, mexidol.

Пищевые добавки вводятся в пищевые продукты в процессе их производства, упаковки, транспортировки или хранения для улучшения их органолептических свойств и увеличения сроков хранения [7]. В настоящее время достаточно широко используется Е211, или натрия бензоат (натриевая соль бензойной кислоты, НБ), который представляет собой белый кристаллический порошок сладковато-соленого вкуса, легко растворимый в воде с образованием слабощелочного раствора. В виде естественного природного компонента НБ в небольших дозах содержится в яблоках, изюме, клюкве, корице и т.д. [6]. В клинической практике натрия бензоат применяют внутрь как отхаркивающее средство при бронхитах и других заболеваниях дыхательных путей. Piper P.W. показано мощное про-

окислительное действие бензоата натрия на популяции аэробных дрожжей. Кроме того, Е211 оказывает мутагенное воздействие на митохондриальную ДНК, приводит к угнетению клеточного дыхания и окислительному стрессу в клетках эпителия желудочно-кишечного тракта при употреблении пищи, содержащей данный компонент [9].

В наших предшествующих исследованиях было установлено, что 60-дневное внутрижелудочное введение натрия бензоата сопровождается дестабилизацией ультраструктуры и фазового состава костного биоминерала, выраженность которой зависит от концентрации вводимого препарата [4]. Вместе с этим, сведения о ростовых процессах в скелете после длительного употребления в пищу натрия бензоата в доступной литературе нам обнаружить не удалось.

**Цель исследования:** изучить в эксперименте темпы роста костей скелета у половозрелых белых крыс после 2-месячного употребления в пищу НБ в различной концентрации и обосновать возможности его коррекции. Работа является фрагментом межвузовской научно-исследовательской темы «Морфогенез различных органов и систем организма при нанесении дефекта в большеберцовых костях после 60-ти дневного введения натрия бензоата или тартразина» (государственный регистрационный номер – 0113U005755).

**Материал и методы исследования.** Исследование было проведено на 175 белых беспородных половозрелых крысах-самцах с исходной массой тела 200-210 г, взятых из вивария ГЗ «Луганский государственный медицинский университет».

Содержание и манипуляции над лабораторными крысами проводились 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 5 групп: 1-ю группу составили контрольные животные, которым ежедневно в течение 60-ти 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-ти дней при помощи желудочного зонда вводился 1 мл НБ в дозировке 500 мг/кг и 1000 мг/кг массы тела соответственно (производитель «Eastman Chemical B.V., Нидерланды») (группы НБ1 и НБ2). 4-я и 5-я группа – животные, которым наряду с НБ вводили внутримышечно мексидол из расчета 50 мг/кг массы тела ежедневно (производитель ООО Медицинский центр «Эллара», Российская Федерация) (группы НБ1М и НБ2М). Расчёт дозировки вводимых препаратов производили с учётом рекомендаций Ю.Р. и Р.С. Рыболовлевых [5].

По окончании эксперимента (через 3, 10, 15, 24 и 45 дней после окончания введения бензоата натрия) животных декапитировали под эфирным наркозом, выделяли плечевые и тазовые кости, а также третий поясничный позвонок, взвешивали на аналитических весах ВРА-200 и проводили их остеометрию штангенциркулем ШЦ-1с с точностью до 0,05 мм по традиционной схеме [3].

Полученные цифровые данные обрабаты-

вали методами вариационной статистики с использованием стандартных прикладных программ [2]. Достоверными считали отличия с уровнем значимости  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** У животных контрольной группы (К) репродуктивного возрастного периода наблюдался достаточно интенсивный продольный и аппозиционный рост всех исследуемых костей.

За период наблюдения максимальная длина плечевой и тазовой костей увеличилась соответственно с  $27,99 \pm 0,38$  мм до  $28,87 \pm 0,36$  мм и с  $42,57 \pm 0,52$  мм до  $44,23 \pm 0,56$  мм, а высота тела третьего поясничного позвонка – с  $7,63 \pm 0,09$  мм до  $8,3 \pm 0,12$  мм.

При этом для большеберцовой и тазовой костей индекс Симона в ходе наблюдения уменьшался соответственно с  $4,04 \pm 0,06$  у.е. до  $3,89 \pm 0,05$  у.е. и с  $5,28 \pm 0,08$  у.е. до  $5,00 \pm 0,06$  у.е., что, исходя из формулы его расчета свидетельствует преобладании темпов прироста массы данных костей над темпами их продольного роста. Для третьего поясничного позвонка индекс Симона колебался в пределах 1,28-1,29 у.е., что свидетельствует о равновесии продольного роста его тела и темпов прироста массы позвонка.

Наряду с продольными размерами исследуемых костей увеличивались и их поперечные размеры. Так, за период наблюдения ширина проксимального и дистального эпифизов плечевой кости увеличилась соответственно с  $5,74 \pm 0,09$  мм до  $6,01 \pm 0,07$  мм и с  $6,51 \pm 0,08$  мм до  $6,93 \pm 0,07$  мм, а ширина и передне-задний размер середины диафиза – соответственно с  $2,37 \pm 0,04$  мм до  $2,53 \pm 0,04$  мм и с  $2,47 \pm 0,04$  мм до  $2,63 \pm 0,04$  мм.

Также, за период наблюдения максимальная ширина и толщина тазовой кости у контрольных животных увеличилась соответственно с  $16,41 \pm 0,23$  мм до  $17,23 \pm 0,27$  мм и с  $4,74 \pm 0,07$  мм до  $5,34 \pm 0,08$  мм. Увеличивались в ходе наблюдения и поперечные размеры тела третьего поясничного позвонка: краниальная ширина – с  $4,11 \pm 0,08$  мм до  $4,59 \pm 0,06$  мм, краниальная толщина – с  $2,96 \pm 0,05$  мм до  $3,26 \pm 0,06$  мм, каудальная ширина – с  $4,36 \pm 0,08$  мм до  $4,77 \pm 0,07$  мм, а каудальная толщина – с  $3,09 \pm 0,04$  мм до  $3,41 \pm 0,05$  мм.

Полученные результаты соответствуют описанной в литературе динамике процессов роста костей у интактных животных половозрелого возраста.

Внутрижелудочное введение натрия бензоата в дозировке 500 мг/кг (группа НБ1) массы в течение 60 дней сопровождалось угнетением роста исследуемых костей.

На 3 день после окончания введения на-

трия бензоата в дозировке 500 мг/кг массы ширина проксимального и дистального эпифизов плечевой кости были меньше контрольных на 3,98% и 3,07%, а ширина и передне-задний размер диафиза – на 4,92% и 4,62%. Максимальные длина, ширина и толщина тазовой кости также были меньше контрольных показателей соответственно на 3,52%, 6,01% и 5,42%. Также, высота тела третьего поясничного позвонка была меньше контрольных значений на 4,49%, а его каудальная толщина, краниальная ширина и краниальная толщина – на 5,09%, 6,09% и 6,28%.

В период реадaptации после введения натрия бензоата в дозировке 500 мг/кг массы темпы роста исследуемых костей постепенно восстанавливались и на 24 день наблюдения достоверные отличия остеометрических показателей от контрольной группы уже не определялись.

Ширина и передне-задний размер середины диафиза плечевой кости на 10 и 15 день наблюдения были меньше контрольных значений соответственно на 5,88% и 5,78%, и на 5,90% и 6,15%, а ширина проксимального эпифиза – на 4,24% и 4,40%. Также, максимальная ширина и толщина тазовой кости на 10 и 15 день наблюдения были меньше контрольных значений соответственно на 6,48% и 6,11%, и на 6,73% и 4,74%.

Наконец, каудальная и краниальная ширина тела третьего поясничного позвонка на 10 и 15 день наблюдения были меньше контрольных значений соответственно на 4,98% и 4,41%, и на 5,29% и 5,14%. Высота тела третьего поясничного позвонка и его краниальная ширина были меньше контрольных показателей на 10 день – на 4,62% и 6,73%.

Таким образом, внутрижелудочное введение натрия бензоата в дозировке 500 мг/кг массы в течение 60 дней сопровождается угнетением роста исследуемых костей, которое сохранялось до 15 дня периода реадaptации.

Внутрижелудочное введение натрия бензоата в дозировке 1000 мг/кг массы в течение 60 дней (группа НВ2) сопровождалось угнетением роста исследуемых костей, более выраженным, чем при дозировке 500 мг/кг массы тела подопытных животных.

На 3 день после окончания введения натрия бензоата в дозировке 1000 мг/кг массы максимальная длина плечевой и тазовой костей, а также высота тела третьего поясничного позвонка были меньше контрольных показателей соответственно на 9,50%, 7,59% и 8,69%.

Также, меньше контрольного были индекс Симона для третьего поясничного позвонка –

на 4,86%. Это может свидетельствовать о том, что темпы продольного роста тела позвонка угнетались сильнее, чем темпы прироста массы позвонка.

Ширина проксимального и дистального эпифизов плечевой кости была меньше контрольной на 5,22% и 4,17%, а ширина и передне-задний размер середины диафиза – на 7,23% и 8,67%. Максимальная ширина и толщина тазовой кости была меньше контрольных показателей на 7,75% и 7,83%. Наконец, каудальные ширина и толщина тела третьего поясничного позвонка были меньше контрольных на 6,89% и 9,26%, а краниальные ширина и толщина – на 8,87% и 8,21%.

В период реадaptации после введения натрия бензоата в дозировке 1000 мг/кг массы темпы роста исследуемых костей постепенно восстанавливались, но достоверные отличия показателей остеометрии от аналогичных у интактных животных сохранялись и в поздние сроки наблюдения.

С 10 по 24 день наблюдения максимальная длина плечевой и тазовой кости, а также высота тела третьего поясничного позвонка были меньше аналогичных контрольных показателей соответственно на 4,71%, 3,48% и 4,36%, на 4,60%, 3,91% и 2,84%, и на 7,39%, 5,97% и 4,29%. Также, индекс Симона для третьего поясничного позвонка был меньше контрольного на 4,35%.

Ширина проксимального и дистального эпифизов плечевой кости была меньше контрольных значений с 10 по 24 день периода наблюдения соответственно на 5,90%, 5,38% и 4,37%. Ширина середины диафиза плечевой кости была меньше контрольных значений во все установленные сроки наблюдения соответственно на 8,82%, 6,94%, 4,62% и 5,08%, а передне-задний размер середины диафиза с 10 по 24 день – соответственно на 10,11%, 8,38% и 7,73%.

Максимальная толщина тазовой кости также с 10 по 24 день наблюдения была меньше контрольных значений на 7,60%, 6,69% и 5,99%, а максимальная ширина на 10 и 15 день – на 8,29% и 7,40%. Наконец, каудальные ширина и толщина тела третьего поясничного позвонка с 10 по 24 день наблюдения были меньше контрольных значений соответственно на 4,81%, 5,99% и 6,21%, и на 9,05%, 6,17% и 5,17%. При этом краниальные ширина и толщина тела третьего поясничного позвонка с 10 по 24 день наблюдения были меньше контрольных значений соответственно на 8,75%, 8,74% и 5,75%, и на 7,69%, 7,48% и 8,22%.

Таким образом, внутрижелудочное введение

ние натрия бензоата в дозировке 1000 мг/кг массы в течение 60 дней сопровождается угнетением продольного и аппозиционного роста исследуемых костей, которое сохранялось преимущественно до 24 дня периода реадaptации.

При одновременном внутрижелудочном введении натрия бензоата в дозировке 500 мг/кг массы тела и внутримышечном введении 5% раствора мексидола из расчета 50 мг/кг массы тела (группа НБ1М) негативное влияние условий эксперимента на темпы роста костей в значительной степени сглаживалось.

Сравнение с показателями остеометрии группы НБ1 выявило следующее: на 3 день после окончания воздействия условий группы НБ1М достоверных отличий от контрольных показателей группы НБ1 не было выявлено.

В период реадaptации после воздействия условий группы НБ1М достоверные отличия от показателей группы НБ1 регистрировались в период с 10 по 24 день наблюдения.

Ширина середины диафиза плечевой кости была больше значений группы НБ1 на 10 и 15 день наблюдения на 5,06% и 5,21%, а передне-задний размер середины диафиза на 10 день – на 4,24%. Максимальная толщина тазовой кости на 10 день наблюдения была больше контрольных значений на 3,48%, а максимальная ширина на 15 день – на 5,08%. Наконец, на 10 день наблюдения больше значений группы были каудальная толщина и краниальная ширина тела третьего поясничного позвонка были больше значений группы НБ1 на 3,81% и 5,34%, на 15 день – краниальная толщина тела позвонка на 4,68% и на 24 день – каудальная ширина тела позвонка – на 4,28%.

Таким образом, одновременное внутрижелудочное введение натрия бензоата в дозировке 500 мг/кг массы тела и внутримышечное введение 5% раствора мексидола из расчета 50 мг/кг массы тела сопровождается сглаживанием негативного влияния условий эксперимента на темпы роста костей. Это проявляется в преобладании остеометрических показателей в группе НБ1М над показателями группы НБ1 в период с 10 по 24 день наблюдения.

При одновременном внутрижелудочном введении натрия бензоата в дозировке 1000 мг/кг массы тела и внутримышечном введении 5% раствора мексидола из расчета 50 мг/кг массы тела (группа НБ2М) негативное влияние условий эксперимента на темпы роста костей также в значительной степени сглаживалось.

Сравнение с показателями остеометрии группы НБ2 (введение натрия бензоата в дозировке 1000 мг/кг массы без введения мексидола)

выявило, что достоверные отличия имели место только после 10 дня периода реадaptации.

Ширина середины диафиза плечевой кости была больше контрольных значений группы НБ2 с 10 по 24 день наблюдения соответственно на 4,32%, 4,16% и 4,00%, а передне-задний размер середины диафиза – на 24 день на 5,57%. Краниальная ширина тела третьего поясничного позвонка была больше значений группы НБ2 на 15 и 24 день наблюдения на 4,50% и 4,98%, каудальная толщина тела на 15 день – на 3,66%, а краниальная толщина на 24 день – на 5,62%. Остеометрические параметры тазовой кости были несколько больше аналогичных показателей группы НБ2, но границ доверительного интервала отличия ни в одном из случаев не достигали.

Таким образом, одновременное внутрижелудочное введение натрия бензоата в дозировке 1000 мг/кг массы тела и внутримышечное введение 5% раствора мексидола из расчета 50 мг/кг массы тела сопровождается сглаживанием негативного влияния условий эксперимента на темпы роста костей. Это проявляется в преобладании остеометрических показателей в группе НБ2М над показателями группы НБ2 в период с 10 по 24 день наблюдения.

Известно, что бензоат натрия в тонкой кишке вступает в химическую реакцию с аскорбиновой кислотой и бензол, который вызывает прямое повреждение молекулы ДНК митохондрий, что приводит к нарушению синтеза АТФ в клетках организма и, в частности, в клетках реактивных отделов скелета – эпифизарных хрящей и надкостницы [11]. Это сопровождается нарушением физиологической регенерации костной ткани, являющейся основным структурным компонентом костей, что и сказывается на их росте.

Поскольку, установлена роль бензоата натрия в инициировании оксидативного стресса организма и образовании в тонкой кишке бензола, оказывающего прямое повреждающее действие на молекулу ДНК митохондрий клеток [10] корректирующее влияние мексидола может объясняться наличием у него мембранопротекторного, антиоксидантного, стресс-протекторного и антигипоксического действия [1].

#### **Выводы:**

1. Внутрижелудочное введение натрия бензоата ежедневно в течение 60-ти дней у половозрелых белых крыс сопровождается замедлением темпов роста исследуемых костей, выраженность которого зависит от дозировки вводимого препарата.

2. Введение натрия бензоата в дозировке

1000 мг/кг массы тела подопытным животным сопровождается более значительным замедлением темпов роста исследуемых костей, чем применение дозировки 500 мг/кг массы тела.

3. В период реадaptации после применения натрия бензоата достоверные отличия остеометрических параметров исследуемых костей при дозировке 500 мг/кг регистрировались до 15 дня наблюдения, а при дозировке 1000 мг/кг до 45 дня наблюдения

4. В период реадaptации после 60-ти дневного ежедневного внутривентрикулярного введения бензоата натрия в дозировках 500 и 1000 мг/кг массы тела внутримышечное применение 5% раствора мексидола из расчета 50 мг/кг массы тела сопровождается восстановлением темпов роста исследуемых костей. При повышении вводимой дозы бензоата натрия до 1000 мг/кг выраженность и продолжительность корригирующего влияния введения мексидола уменьшается.

**Перспективы дальнейших исследований.** В дальнейшем с целью выяснения структурных механизмов угнетения ростовых процессов в скелете в условиях нашего эксперимента планируется изучить гистологическое строение проксимального эпифизарного хряща плечевой кости у белых крыс в период реадaptации после 60-ти дневного введения натрия бензоата и использовании в качестве корректора мексидола.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Воронина Т.А. Мексидол: основные нейрорепсихотропные эффекты и механизм действия / Т.А. Воронина // Фарматека. – 2009. – №6. – С. 28-31.
2. 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.
3. Лузин В.И. Динамика темпов роста костей у белых крыс после ингаляционной затравки толуолом и возможные пути ее коррекции /

В.И. Лузин, Е.Ю. Шутов, А.Н. Скоробогатов // Украинський морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 2. – С. 47 – 50.

4. Лукьянцева Г.В. Фазовый состав биоминерала тазовой кости у белых крыс после двухмесячного употребления в пищу натрия бензоата // Украинський морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 4 (додаток). – С. 41-44.

5. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – Том 247, № 6. – С. 1513-1516.

6. Сарафанова Л.А. Пищевые добавки: Энциклопедия. / Л.А. Сарафанова – Санкт-Петербург: ГИОРД, 2004. – 808 с.

7. Concise International Chemical Assessment Document 26. Benzoic acid and sodium benzoate / A. Wibbertmann, J. Kielhorn, G. Koennecker [et al.] Geneva: World Health Organization, 2010. – 48 p.

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. Ikarashi Y. Analysis of preservatives used in cosmetic products: salicylic acid, sodium benzoate, sodium dehydroacetate, potassium sorbate, phenoxyethanol, and parabens / Y. Ikarashi, T. Uchino, T. Nishimura // Kokuritsu Iyakuhin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku. – 2010. – V. 128. – P. 85-90.

10. Production of Benzene from Ascorbic Acid and Sodium Benzoate. A White Paper Produced by AIB International. – Manhattan, Kansas, 2006. – 4 с.

11. The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: sodium benzoate and potassium benzoate / N. Zengin, D. Yüzbaşıoğlu, F. Unal [et al.] // Food Chem. Toxicol. – 2011. – V. 49(4). – P. 763-769.

*Надійшла 19.03.2014 р.  
Рецензент: проф. С.А. Кащенко*