

**ВПЛИВ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ БЕНЗОАТУ НАТРІЮ
НА СТРУКТУРУ ПРОКСИМАЛЬНОГО ЕПІФІЗАРНОГО ХРЯЩА
ПЛЕЧОВОЇ КІСТКИ У БІЛИХ ЩУРІВ
ТА МОЖЛИВОСТІ ЙОГО КОРЕКЦІЇ НАТРІЮ СЕЛЕНІТОМ**

Національний університет фізичного виховання і спорту України (м. Київ)

lukjantseva@gmail.com

Зв'язок з науковими темами і планами: робота є фрагментом міжвузівської НДР «Морфогенез різних органів і систем організму при нанесенні дефекту в великоомілкової кістках після 60-ти денного введення натрію бензоату або тартразину» (державний реєстраційний № 0113U005755).

Вступ. Сучасна харчова промисловість характеризується широким додаванням у продукти харчування найрізноманітніших хімічних домішок, зокрема, в якості консерванту часто використовують E211, або натрію бензоат (натрієва сіль бензойної кислоти, НБ) [8]. НБ у вигляді природного компонента в невеликих дозах міститься в яблуках, винограді, журавлині тощо [14]. Відомості про вплив НБ на структуру та функціонування біологічних об'єктів неоднозначні. Доведена потужна проокислювальна дія НБ на популяції аеробних дріжджів [11]. E211 вказує мутагенний вплив на мітохондріальну ДНК, призводить до пригнічення клітинного дихання та розвитку окисного стресу в клітинах епітелію травного тракту [9]. Водночас, показано, що при прийомі всередину НБ надходить в мозок, де захищає нейрони, нормалізує рівень нейромедіаторів, покращує рухові функції у мишей з хворобою Паркінсона [12]. Раніше нами було встановлено, що 60-денне внутрішньошлункове введення НБ супроводжується пригніченням темпів росту кісток, зниженням їх міцності і дестабілізацією ультраструктури кісткового біомінерала; вираженість означених змін знаходиться у прямій залежності від концентрації НБ [3-5]. Разом з цим, відомості про гістологічну будову проксимальних епіфізарних хрящів після тривалого вживання НБ в літературі уривчасті, а можливі шляхи корекції його порушень в цих умовах не висвітлені взагалі.

Мета дослідження – вивчити гістологічну будову проксимального епіфізарного хряща плечових кісток у білих щурів після 2-місячного вживання в їжу НБ в різній концентрації і обґрунтувати можливості його корекції натрію селенітом.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження було проведено на 245 білих безпородних статевозрілих щурах-самцях, з вихідної масою тіла 200-210 г. Маніпуляції над тваринами проводили відповідно до правил, встановлених «Європейською конвенцією з захисту хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) [10]. Всі тварини були розподілені на наступні групи: 1-у групу склали контрольні твари-

ни, яким щодня протягом 60-ти днів, за допомогою шлункового зонда, вводили 1 мл 0,9% ізотонічного розчину натрію хлориду (група К). 2-у і 3-у групи склали щури, яким щодня протягом 60-ти днів, за допомогою шлункового зонда, вводили 1 мл НБ в дозуванні 500 мг/кг і 1000 мг/кг маси тіла («Eastman Chemical BV, Нідерланди») (групи НБ1 і НБ2). Наступним двом групам тварин одночасно з НБ у тому ж дозуванні, що і в попередніх групах, внутрішньошлунково вводили селеназу (натрію селеніт) з розрахунку 40 мкг/кг маси тіла щодня (Біосини Арцнайміттель ГмБХ, Німеччина) (групи НБ1С і НБ2С). Розрахунок дозування препаратів проводили з урахуванням рекомендацій Ю.Р. і Р.С. Риболовлевих [7]. Після закінчення експерименту (через 3, 10, 15, 24 і 45 днів після закінчення введення НБ) у тварин, декапітованих під ефірним наркозом, виділяли плечові кістки. Проксимальні епіфізи плечових кісток фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну, декальцінували, зневоднювали і заливали в парафін. Гістологічні зрізи товщиною 6-8 мкм фарбували гематоксилін-еозином і досліджували за допомогою окулярного гвинтового мікрометра МОВ-1 15Х ГОСТ 7865-56 за загальноприйнятною методикою [2]. При морфометрії проксимального епіфізарного хряща використовували морфофункціональну класифікацію В.Г. Ковешнікова [1].

Результати дослідження та їх обговорення. Внутрішньошлункове введення щурам НБ в дозуванні 500 мг/кг супроводжувалося порушенням гістологічної будови проксимальних епіфізарних хрящів плечових кісток. На 3 день після закінчення дії умов експерименту у групи НБ1 загальна ширина проксимального епіфізарного хряща була менше значень групи К на 6,71%, ширина зони індивідуального хряща – на 5,65%, зони проліферируючого хряща – на 6,77%, зони дефінітивного хряща – на 5,84%, зони деструкції – на 7,57% і зони остеогенезу – на 8,32%. У зоні остеогенезу зміст первинної спонгіїзії і кількість остеобластів були менше контрольних значень на 6,98% і 6,03%, а частка міжклітинної речовини – більше на 5,12%. Нарешті, в області проксимального метафіза площа, що зайнята кістковими трабекулами, була менше аналогічних значень групи К на 5,41%, а кількість клітин – на 6,00%.

Загальна ширина епіфізарного хряща тварин з 10 по 24 день після введення НБ була менше значень групи К на 6,36%, 5,28% і 2,02%. При цьому на 10 і 15 день ширина окремих його зон також

була менше значень групи К: зони індивергентного хряща – на 5,76% і 6,10%, зони пролиферуючого хряща – на 6,94% і 5,92%, зони дефінітивного хряща – на 5,46% і 4,10%, зони деструкції – на 6,29% і 5,75%, і зони остеогенезу – на 7,35% і 4,94%. Також, зміст первинної спонгіозії і кількість клітин на поверхні трабекул в зоні остеогенезу на 10 і 15 день були менше значень групи К на 6,24% і 5,86%, і на 6,17% і 5,35%. Водночас площа, що зайнята трабекулами, і кількість клітин на поверхні трабекул в області проксимального метафіза на 10 і 15 день були менше значень групи К відповідно, на 4,86% і 4,55%, і на 6,81% і 5,85%. Таким чином, введення шурам НБ в дозуванні 500 мг/кг супроводжується зниженням кістковоутворювальної функції проксимального епіфізарного хряща плечових кісток, яке після припинення дії умов досить швидко відновлюється, і після 15 дня спостереження достовірні відмінності досліджуваних показників від групи К вже практично не реєструються.

Збільшення дозування НБ до 1000 мг/кг супроводжувалося посиленням негативного впливу умов експерименту на будову епіфізарних хрящів. На 3 день після закінчення введення НБ в дозуванні 1000 мг/кг загальна ширина проксимального епіфізарного хряща плечової кістки була менше значень групи К на 9,63%. При цьому ширина окремих його зон також була менше значень групи К: індивергентного хряща – на 7,02%, пролиферуючого хряща – на 10,02%, дефінітивного хряща – на 8,38%, деструкції – на 10,89% і остеогенезу – на 9,80%. У зоні остеогенезу зміст первинної спонгіозії і кількість клітин на поверхні трабекул були менше значень групи К на 8,57% і 8,75%, а зміст міжклітинної речовини в хрящі був більше контрольної на 8,97%. Нарешті, в області проксимального метафіза площа, зайнята трабекулами, і кількість клітин на поверхні трабекул були менше значень групи К на 7,38% і 8,67%. У період реадaptaції після впливу умов в групі НБ2 загальна ширина проксимального епіфізарного хряща була менше значень групи К в усі терміни спостереження на 9,39%, 9,28%, 5,65% і 2,40%, а ширина зони пролиферуючого хряща – на 10,92%, 10,24%, 7,81% і 3,86%. Також, з 10 по 24 день спостереження менше значень групи К були: ширина зони дефінітивного хряща – на 8,51%, 6,75% і 4,39%, ширина зони деструкції – на 8,75%, 8,72% і 5,60%, і ширина зони остеогенезу – на 9,15%, 5,68% і 5,23%. Ширина зони індивергентного хряща була менше контрольної тільки на 10 і 15 день – на 7,85% і 9,09%. У зоні остеогенезу зміст первинної спонгіозії і кількість клітин на поверхні трабекул були менше значень групи К з 10 по 24 день, відповідно, на 6,91%, 7,70% і 4,55%, і на 9,72%, 8,10% і 5,15%. При цьому зміст міжклітинної речовини в хрящі було більше значень групи К з 10 по 24 день спостереження на 7,89%, 5,18% і 4,81%. Нарешті, в області проксимального метафіза площа, що зайнята трабекулами, була менше значень групи К в усі терміни спостереження, відповідно, на 7,94%, 7,44%, 5,69% і 2,46%, а кількість клітин на поверхні кісткових трабекул з 10 по 24 день – на 9,05%, 8,97% і 6,24%. Таким чином, введення НБ в дозі 1000 мг/кг супроводжується зниженням функції проксимального епіфізарного хряща плечових

кісток, яке після припинення дії умов в групі НБ2 поступово відновлюється, і після 24 дня спостереження достовірні відмінності досліджуваних показників від групи К вже практично не реєструються.

Одночасне введення НБ в дозуванні 500 мг/кг маси тіла і селенази з розрахунку 40 мкг/кг маси тіла (група НБ1С) супроводжувалося згладжуванням негативного впливу умов експерименту на морфофункціональний стан проксимальних епіфізарних хрящів плечових кісток. Загальна ширина епіфізарного хряща була більше значень групи НБ1 на 10 і 15 день спостереження на 3,92% і 4,10%, а ширина зон пролиферуючого хряща, деструкції і остеогенезу, а також частка первинної спонгіозії в зоні остеогенезу – відповідно, на 4,76% і 4,78%, на 4,97% і 4,83%, на 4,46% і 5,34% і на 4,57% і 4,14%. Також, зміст міжклітинної речовини в хрящі на 10 день було менше значень групи НБ1 на 4,74%, а ширина зони індивергентного хряща на 15 день – більше на 3,90%. Площа, зайнята кістковими трабекулами в області проксимального метафіза плечової кістки була більше значення у контрольній групі з 15 по 45 день спостереження, відповідно, на 3,55%, 4,59% і 3,90%. Таким чином, одночасне введення НБ і супроводжується згладжуванням негативного впливу умов експерименту на гістологічну будову проксимального епіфізарного хряща плечової кістки. Це проявляється в переважанні показників, що характеризують кістковоутворювальну функцію хряща, в групі НБ1С над показниками групи НБ1 в період з 10 по 45 день спостереження.

Одночасне введення НБ в дозі 1000 мг/кг і селенази з розрахунку 40 мкг/кг маси тіла (група НБ2С) також супроводжувалося згладжуванням негативного впливу умов експерименту на морфофункціональний стан проксимальних епіфізарних хрящів плечових кісток, загальна ширина яких у тварин групи НБ2С була більше значень групи НБ2 з 3 по 45 день спостереження на 4,13%, 4,76%, 4,54%, 3,58% і 2,82%, а ширина зони пролиферуючого хряща – на 4,93%, 6,73%, 5,71%, 4,96% і 4,08%. Також, ширина зони деструкції на 3 та 15 день спостереження була більше значень групи НБ2 на 4,47% і 4,20%, ширина зони індивергентного хряща на 10 і 15 день – на 5,25% і 5,64%, а ширина зони остеогенезу на 10 день – на 3,71%. При цьому з 3 по 24 день спостереження зміст первинної спонгіозії і кількість клітин на поверхні трабекул в зоні остеогенезу були більше значень групи НБ2, відповідно, на 4,55%, 4,47%, 4,22% і 4,55%, і на 5,23%, 6,78%, 6,30% і 4,86%. Нарешті, в області проксимального метафіза плечової кістки кількість остеобластів було більше значень групи НБ2 з 3 по 24 день спостереження, відповідно, на 5,21%, 4,25%, 6,09% і 6,23%, а площа, що зайнята трабекулами, з 10 по 45 день – на 3,61%, 5,09%, 5,94% і 3,21%. Таким чином, одночасне введення НБ в дозуванні 1000 мг/кг маси і селенази з розрахунку 40 мкг/кг маси супроводжується згладжуванням негативного впливу умов експерименту на гістологічну будову проксимального епіфізарного хряща плечової кістки. Це проявляється в переважанні показників, що характеризують кістковоутворювальну функцію хряща, в групі НБ2С над показниками групи НБ2.

Отримані в ході експерименту результати, ймовірно, можна пояснити наступним чином: НБ в тонкій кишці вступає в реакцію з аскорбіновою кислотою, що призводить до утворення бензолу, який викликає пряме пошкодження молекули ДНК мітохондрій. Це, в свою чергу, призводить до порушення синтезу АТФ в клітинах організму і, зокрема, в клітинах реактивних відділів скелета – епіфізарних хрящів і окістя [13]. Наслідком цього є порушення фізіологічної регенерації кісткової тканини, яка є основним структурним компонентом кісток, що і позначається на їх гістологічній будові. Корируючий вплив натрію селеніту може пояснюватися наявністю у нього мембранопротекторної, антиоксидантної, стрес-протекторної і антигіпоксичної дії, а також тим фактом, що окрім перерахованих вище властивостей, він також підтримує функцію глутатіонпероксидази і ферментів, які беруть участь в дейодуванні тиреоїдних гормонів [6].

Висновки

1) Внутрішньошлункове введення НБ протягом 60-ти днів супроводжується порушенням гістологічної будови проксимального епіфізарного хряща

плечових кісток, вираженість якого залежить від дозування препарату.

2) Введення НБ в дозуванні 1000 мг/кг супроводжується більш значним порушенням гістологічної будови проксимального епіфізарного хряща плечових кісток, ніж застосування дозування 500 мг/кг.

3) В період реадaptaції після застосування НБ достовірні відмінності гістоморфометричних параметрів проксимального епіфізарного хряща плечових кісток при дозуванні 500 мг/кг реєстрували до 15 дня спостереження, а при дозуванні 1000 мг/кг – до 24 дня спостереження.

4) Застосування в якості коректора адаптації препарату селеназа знижує негативний вплив натрію бензоату.

Перспективи подальших досліджень. Надалі з метою з'ясування механізмів пригнічення структурно-функціонального стану епіфізарних хрящів довгих кісток в умовах нашого експерименту планується вивчити макро- і мікроелементний склад різних кісток у білих щурів в період реадaptaції після 60-тиденного введення НБ і використанні в якості коректора мексидола або селенази.

Література

1. Ковешников В.Г. Зональное строение эпифизарного хряща / В.Г. Ковешников // Антропогенетика, антропология, спорт. – Винница, 1980. – Т. 2. – С. 251-252.
2. Лузин В.И. Функциональное состояние проксимального эпифизарного хряща большеберцовой кости при имплантации в нее керамического гидроксилapatита и деминерализованного костного матрикса / В.И. Лузин, Е.П. Бережной // Український морфологічний альманах. – 2010. – Том 8, № 2. – С. 123-125.
3. Лукьянцева Г.В. Влияние 60-дневного введения бензоата натрия на прочностные характеристики костей скелета белых крыс в период реадaptaции / Г.В. Лукьянцева, В.И. Лузин, В.Н. Морозов // Травма. – 2014. – Том 15, № 3. – С. 30-32.
4. Лукьянцева Г.В. Особенности роста костей скелета у белых крыс после двухмесячного употребления натрия бензоата и возможности его коррекции / Г.В. Лукьянцева // Український морфологічний альманах. – 2014. – Том 12, № 2. – С. 120-124.
5. Лукьянцева Г.В. Фазовый состав биоминерала тазовой кости у белых крыс после двухмесячного употребления в пищу натрия бензоата / Г.В. Лукьянцева // Український морфологічний альманах. – 2011. – Том 9, № 4 (додаток). – С. 41-44.
6. Опыт использования препарата селеназа в комплексном лечении гнойно-воспалительных заболеваний органов малого таза осложненный перитонитом / М.М. Магомедов, З.А. Магомедова, П.М. Нурмагомедова, Ш.Х. Рабаданов // Вестник новых медицинских технологий. – 2013. – Вып. № 4, том 20. – С. 64-68.
7. 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.
8. 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.
9. DNA content alterations in Tetrahymena pyriformis macronucleus after exposure to food preservatives sodium nitrate and sodium benzoate / A.C. Loutsidou, V.I. Hatzi, C.T. Chasapis [et al.] // Acta Biol. Hung. – 2012. – Vol. 63 (4). – P. 483-489.
10. 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.
11. 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 Iyakuin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku. – 2010. – V. 128. – P. 85-90.
12. Khasnavis S. Sodium benzoate, a metabolite of cinnamon and a food additive, upregulates neuroprotective Parkinson disease protein DJ-1 in astrocytes and neurons / S. Khasnavis and K. Pahan // J. Neuroimmune Pharmacol. – 2012. – Vol. 7 (2). – P. 424-435.
13. Production of Benzene from Ascorbic Acid and Sodium Benzoate. A White Paper Produced by AIB International. – Manhattan, Kansas, 2006. – 4 p.
14. The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: sodium benzoate and potassium benzoate / N. Zengin, D. Yzbazıoğlu, F. Unal [et al.] // Food Chem. Toxicol. – 2011. – V. 49 (4). – P. 763-769.

УДК 519.443:[613.648.4+613.37

ВПЛИВ ТРИВАЛОГО ВВЕДЕННЯ БЕНЗОАТУ НАТРІЮ НА СТРУКТУРУ ПРОКСИМАЛЬНОГО ЕПІФІЗАРНОГО ХРЯЩА ПЛЕЧОВОЇ КІСТКИ У БІЛИХ ЩУРІВ ТА МОЖЛИВОСТІ ЙОГО КОРЕКЦІЇ НАТРІЮ СЕЛЕНІТОМ

Лук'янцева Г. В.

Резюме. В експерименті на білих щурах встановили, що внутрішньошлункове введення натрію бензоату в дозуванні 500 мг/кг і 1000 мг/кг маси тіла протягом 2 місяців супроводжується порушенням будови про-

кسیمального епіфізарного хряща плечових кісток, вираженість якого залежить від дозування препарату. У період реадaptaції відновлення будови проксимального епіфізарного хряща також супроводжувалося дозозалежним ефектом. Внутрішньшлункове застосування натрію селеніту в дозуванні 40 мкг/кг маси тіла супроводжується згладжуванням негативного впливу умов експерименту, що може бути обумовлено широким спектром його фармакологічних властивостей.

Ключові слова: натрію бензоат, кістки, епіфізарний хрящ, натрію селеніт.

УДК 519.443:[613.648.4+613.37

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ БЕНЗОАТА НАТРИЯ НА СТРУКТУРУ ПРОКСИМАЛЬНОГО ЭПИФИЗАРНОГО ХРЯЩА ПЛЕЧЕВОЙ КОСТИ У БЕЛЫХ КРЫС И ВОЗМОЖНОСТИ ЕГО КОРРЕКЦИИ НАТРИЯ СЕЛЕНИТОМ

Лукьянцева Г. В.

Резюме. В эксперименте на белых крысах установили, что внутрижелудочное введение натрия бензоата в дозировке 500 мг/кг и 1000 мг/кг массы тела в течение 2 месяцев сопровождается нарушением строения проксимального эпифизарного хряща плечевых костей, выраженность которого зависит от дозировки препарата. В период реадaptaции восстановление строения проксимального эпифизарного хряща также сопровождалось дозозависимым эффектом. Внутрижелудочное применение натрия селенита в дозе 40 мкг/кг массы тела сопровождается сглаживанием негативного влияния условий эксперимента, что может быть обусловлено широким спектром его фармакологических свойств.

Ключевые слова: натрия бензоат, кости, эпифизарный хрящ, натрия селенит.

UDC 519.443:[613.648.4+613.37

EFFECTS OF LONG-TERM ADMINISTRATION OF SODIUM BENZOATE ON THE STRUCTURE OF THE PROXIMAL EPIPHYSEAL CARTILAGE OF THE HUMERUS IN WHITE RATS AND THE POSSIBILITY OF SODIUM SELENITE CORRECTION

Lukyantseva G. V.

Abstract. Intra gastric administration of sodium benzoate white laboratory rats at a dose of 500 mg/kg was accompanied by violation of the histological structure of the proximal epiphyseal cartilage humerus. From 3 to 24 days after the end of the experimental conditions the total width of the proximal epiphyseal cartilage, as well as the indifferent zone width, and proliferating cartilage the definitive values were less than the control group. In the area of bone formation and maintenance of primary spongiosis number of osteoblasts were also less than the reference values, and the percentage of intercellular substance was greater. Thus, administration of sodium benzoate the rats at a dose of 500 mg/kg followed by a decrease in the function of the proximal epiphyseal cartilage humerus. These changes quickly recovered after 15 days of observation, significant differences studied parameters from the control group values hardly registered.

Increasing the dose of sodium benzoate to 1000 mg/kg followed by a much greater intensification of the negative influence of the experimental conditions on the structure of the epiphyseal cartilage. Thus, intra gastric administration to rats of sodium benzoate in a dose of 1000 mg/kg, followed by a significant impairment of the histological structure of the proximal epiphyseal cartilage humerus than the use of sodium benzoate, 500 mg/kg.

Simultaneous administration of sodium benzoate in a dose of 500 mg/kg body weight and sodium selenite at the rate of 40 mcg/kg body weight was accompanied by smoothing of the negative influence of the experimental conditions on the morphological and functional state of the proximal epiphyseal cartilage humerus. The total width of the epiphyseal cartilage was larger group of animals the values of receiving sodium benzoate, sodium-selenite. Also, the width of the zone of proliferating cartilage was increased, the zone of destruction and bone formation, as well as the share of the primary spongiosa bone formation in the area. The content in the cartilage extracellular matrix was less than in animals treated with sodium benzoate, sodium-selenite. The area occupied by bone trabeculae in the proximal metaphysis of the humerus, similar values were greater in the control group. Thus, simultaneous administration of sodium benzoate and sodium selenite accompanied smoothing negative influence of experimental conditions on the histological structure of the proximal epiphyseal cartilage humerus. Simultaneous administration of sodium benzoate in a dose of 1000 mg/kg and selenazy rate of 40 mcg/kg body weight was also accompanied by smoothing of the negative influence of the experimental conditions on the morphological and functional state of the proximal epiphyseal cartilage humerus.

The results obtained in the experiment, probably can be explained as follows: – sodium benzoate in the small intestine is reacted with ascorbic acid, leading to the formation of benzene that causes direct damage to mitochondrial DNA. This in turn leads to disruption of ATP synthesis in the body cells and, in particular, in the skeleton of reactive cells – epiphyseal cartilage and periosteum. The consequence is a violation of physiological regeneration of bone tissue, which is a major structural component of bone, and the impact on their histological structure. Corrective action of sodium selenite can be explained by the presence in it of membrane, antioxidant, stress and tread antihypoxic action, as well as the fact that in addition to the above features, it also supports the function of glutathione and enzymes that are involved in the deiodination of thyroid hormones.

Keywords: sodium benzoate, bone epiphyseal cartilage, sodium selenite.

Рецензент – проф. Єрошенко Г. А.

Стаття надійшла 19.03.2016 року