

ОСОБЛИВОСТІ ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ ПРОТЕЇНІВ ПРИ КОМБІНОВАНІЙ ДІЇ ХАРЧОВИХ ДОБАВОК

Вступ. Скорочення тривалості життя населення України, різке зниження якості життя та індексу здоров'я нації при значному порушенні харчового статусу зумовлюють необхідність порушення питань щодо якості харчової продукції, в тому числі й неконтрольованого використання харчових добавок, тому дане дослідження є актуальним.

Мета дослідження – оцінити показники окиснювальної модифікації протеїнів у тканинах організму щурів при застосуванні розчинів к-карагінану, натрію глутамату та їх комбінованій дії.

Методи дослідження. Дослідження проведено на 48 білих нелінійних щурах-самцях, яких поділили на 4 групи: 1-ша – контроль (інтактні тварини); 2-га – тварини, яким внутрішньошлунково вводили к-карагінан у дозі 40 мг/кг протягом 1 місяця; 3-тя – тварини, яким внутрішньошлунково вводили натрію глутамат у дозі 50 мг/кг; 4-та – тварини, яким внутрішньошлунково вводили к-карагінан і натрію глутамат у вищевказаних дозах. Для оцінки спонтанної окиснювальної модифікації протеїнів (ОМП) спектрофотометрично в ультрафіолетовій частині спектра на довжині хвилі 370 нм визначали кетондинітрофенілгідразони нейтрального характеру (ҚДНФГ) та в ділянці видимого світла 430 нм – альдегіддинітрофенілгідразони основного характеру (АДНФГ). З метою оцінки стимульованої ОМП попередньо додавали до дослідної та контрольної проб по 0,1 мл приготовлених ex tempore $4 \cdot 10^{-3}$ М FeSO₄, 110^{-3} М ЕДТА, 310^{-4} М Н₂O₂.

Результати й обговорення. У сироватці крові частка первинних (АДНФГ) і вторинних (ҚДНФГ) маркерів дослідних груп практично не відрізнялася від співвідношення в контрольній групі. У тканинах легень при введенні експериментальним тваринам натрію глутамату змінювалося співвідношення АДНФГ до ҚДНФГ у бік збільшення частки вторинних маркерів оксидативного стресу, тоді як в інших дослідних групах їх співвідношення практично не відрізнялося від контролю. У тканинах печінки частка первинних і вторинних маркерів дослідних груп практично не відрізнялася від співвідношення в контрольній групі. Аналіз співвідношення первинних і вторинних маркерів ОМП вказує на збільшення частки маркерів пізньої деструкції в тканинах легень при застосуванні натрію глутамату. Менша частка вторинних маркерів у сироватці крові при введенні к-карагінану, стосовно групи тварин, яким вводили натрію глутамат, може свідчити про швидшу утилізацію змінених протеїнів, так званій вторинній антиоксидантний ефект.

Висновок. За умови комбінованої дії розчинів к-карагінану і натрію глутамату вірогідно підвищується спонтанна окиснювальна модифікація протеїнів стосовно контролю та окремої дії харчових добавок, що супроводжується виснаженням резервно-адаптаційного потенціалу в крові, легенях і печінці, відповідно, на 33,4, 32,9 та 24,0 %.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: харчові добавки; окиснювальна модифікація протеїнів; кров; печінка; легені; ефект.

ВСТУП. Особливості сучасного харчування тісно пов'язані з використанням широкого спектра харчових добавок – речовин, які додають в їжу з певною технологічною метою, наприклад, для запобігання псуванню, збереження структури їжі або поліпшення її органолептичних властивостей [1]. В Європейському Союзі (ЄС) правила застосування харчових добавок встановлені Регламентом Європейського парламенту і Ради № 1333/2008 [2]. В Україні до початку 90-х років ХХ ст. використання харчових добавок було

© П. І. Бучко, М. І. Марущак, 2020.

обмеженим порівняно із зарубіжними країнами, зокрема, до 1994 р. дозволяли застосовувати лише 194 харчових добавки, а згідно з Постановою Кабінету Міністрів у 2000 р. – 221 [3]. У Законі України від 03.02.2011 р. № 2973-VI "Про безпечність та якість харчових продуктів" зазначено, що харчова добавка дозволяється до використання за умов, якщо вона не становить небезпеки для здоров'я споживача на рівні застосування, на якому пропонується, що може бути встановлено на підставі доступних наукових доказів [4]. З огляду на затверджений Регламент

ЄС № 1331/2008, наказом Міністерства охорони здоров'я України від 20.03.2013 р. № 218 було передбачено затвердження порядку державної реєстрації харчових добавок, ароматизаторів та ензимів, а також санітарні правила і норми щодо їх застосування, в тому числі їх переліку, дозволеного для використання в харчових продуктах [5]. З метою приведення процедур реєстрації харчових добавок у відповідність із законодавством ЄС у 2018 р. у МОЗ розробили проект наказу про затвердження порядку проведення державної реєстрації харчових добавок, ведення реєстру та надання інформації з нього, проте нормативно-правового акта так і не прийняли. В ЄС постійно спостерігають за безпекою використання харчових продуктів, враховуючи не тільки нову наукову інформацію, але й потенційні зміни у споживанні харчових добавок населенням [6]. Скорочення тривалості життя населення України, різке зниження якості життя та індексу здоров'я нації при значному порушенні харчового статусу зумовлюють необхідність порушення питань щодо якості харчової продукції, в тому числі й неконтрольованого використання харчових добавок [7], тому дане дослідження є актуальним.

Мета дослідження – оцінити показники окиснювальної модифікації протеїнів у тканинах організму щурів при застосуванні розчинів к-карагінану, натрію глутамату та їх комбінованій дії.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проведено на 48 білих нелінійних щурах-самцях, яких утримували на стандартному раціоні віварію Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України. Під час роботи дотримувалися принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей. Піддослідних тварин поділили на 4 групи: 1-ша – контроль (інтактні тварини) (n=12); 2-га – тварини, яким внутрішньошлунково вводили к-карагінан у дозі 40 мг/кг, розчинений у 0,5 мл дистильованої води кімнатної температури, протягом 1 місяця (n=12) [8, 9]; 3-тя – тварини, яким внутрішньошлунково вводили натрію глутамат у дозі 50 мг/кг, розчинений у 0,5 мл дистильованої води кімнатної температури, протягом 1 місяця (n=12) [10]; 4-та – тварини, яким внутрішньошлунково вводили к-карагінан і натрію глутамат у вищевказаних дозах (n=12).

Для приготування 10 % гомогенату відібрані відразу ж після евтаназії зразки легень і печінки охолоджували у фізіологічному розчині до 1–3 °С, підсушували фільтрувальним папером, потім подрібнювали ножицями та гомогенізували

в 0,05 М трис-НСІ буфері (рН 7,4) за допомогою магнітного гомогенізатора SilentCruiser S (Heidolph, Germany) у співвідношенні 1:9 (маса тканини:об'єм буфера). Отриманий гомогенат центрифугували протягом 30 хв при 3000 об./хв на центрифугу з охолодженням Hermle Z 32 НК. Для досліджень використовували надосадову рідину [11].

Для оцінки спонтанної окиснювальної модифікації протеїнів (ОМП) використовували методу визначення рівня карбонільних похідних за R. L. Levine в модифікації Є. Є. Дубініної [12]. Метод оцінки ОМП базується на реакції взаємодії карбонільних похідних окиснених амінокислотних залишків протеїнів з 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням 2,4-динітрофенілгідрозонів, які реєструють за допомогою спектрофотометра в ультрафіолетовій частині спектра на довжині хвилі 370 нм (кетондинітрофенілгідрозони нейтрального характеру – КДНФГ) та в ділянці видимого світла 430 нм (альдегіддинітрофенілгідрозони основного характеру – АДНФГ). Отримані результати виражали в ум. од./г протеїну. Вміст протеїну в тканинах організму та лізаті еритроцитів визначали за методом Лоурі [13]. Для оцінки стимульованої ОМП карбонільні протеїни визначали аналогічним чином, як і спонтанної, з попереднім додаванням до дослідної та контрольної проб по 0,1 мл приготовлених ex tempore 410^{-3} М FeSO₄, 110^{-3} М ЕДТА, 310^{-4} М Н₂О₂, при цьому взаємодія Fe²⁺ з Н₂О₂ сприяла подальшому утворенню гідроксильного радикала (ОН[•]) за реакцією Фентона.

Оцінку спонтанної і стимульованої ОМП на різних довжинах хвиль поглинання інтерпретували окремо, а також шляхом співвідношення результатів вимірювання продуктів спонтанного до стимульованого окиснення, що характеризує резервно-адаптаційний потенціал (РАП) [14].

Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням комп'ютерних програм STATISTICA 7.0 та Excel 2007. Вибір методу статистичного дослідження базувався на правильності розподілу досліджуваних ознак. Зважаючи на неправильний розподіл кількісних характеристик, їх описову статистику здійснювали у вигляді reported as medians and interquartile range (IQ, percentile 25 and percentile 75). Подальше попарне порівнювання груп проводили з використанням U-критерію Манна – Уїтні при оцінюванні рівня статистичної значущості p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Одним з надійних індикаторів окисдативного стресу й ушкодження тканин за умов активації процесів вільнорадикального окиснення є ОМП, у результаті якої змінюються структура, фізико-хімічні та

біологічні властивості протеїнової молекули, що призводить до інактивації великої групи ензимів [15]. Установлено, що в сироватці крові рівень АДНФГ зростає: у 1-й групі – на 24,10 %, у 2-й і 3-й – відповідно, на 40,96 та 102,41 % стосовно контролю. При цьому досліджуваний показник був найвищим у 3-й групі, найнижчим – у 1-й. У тканинах легень рівень АДНФГ збільшувався: в 1-й групі – на 12,93 %, у 2-й і 3-й – відповідно, на 59,48 та 81,90 % щодо контролю. Порівнюючи дослідні групи між собою, встановили вірогідно вище значення досліджуваного показника у 3-й групі, найнижче – в 1-й стосовно інших груп. У печінці рівень АДНФГ зростає: у 1-й групі – на 31,37 %, у 2-й і 3-й – відповідно, на 47,06 % та 70,59 % проти контрольних значень. Варто зазначити, що при комбінованому використанні к-карагінану і натрій глутамату досліджуваний показник був найвищим (табл. 1).

У сироватці крові рівень КДНФГ зростає: у 1-й групі – на 29,28 %, у 2-й і 3-й – відповідно, на 22,10 та 93,92 % стосовно контролю. При цьому досліджуваний показник був найвищим у 3-й групі. У тканинах легень рівень КДНФГ збільшувався: в 1-й групі – на 9,35 %, у 2-й і 3-й – відповідно, на 36,69 та 93,53 % щодо контролю. Порівнюючи дослідні групи між собою, встановили вірогідно вище значення досліджуваного показника у 3-й групі, найнижче – в 1-й стосовно інших груп. У печінці рівень КДНФГ зростає: у 1-й групі – на 20,83 %, у 2-й і 3-й – відповідно, на 47,92 та 72,92 % проти контрольних значень. Варто зазначити, що при комбінованому використанні к-карагінану і натрій глутамату досліджуваний показник був найвищим (табл. 2).

З метою оцінки первинних (АДНФГ) і вторинних (КДНФГ) маркерів оксидативного стресу та функціонального стану клітини в процесі нако-

Таблиця 1 – Показники спонтанної окиснювальної модифікації протеїнів у сироватці крові щурів за рівнем альдегіддинітрофенілгідразонів основного характеру (ум. од./г протеїну) при комбінованій дії харчових добавок

| Група тварин | Кров | Легені | Печінка |
|------------------------------------|--|--|--|
| Контроль | 0,42 (0,38; 0,48) | 0,58 (0,54; 0,63) | 0,26 (0,24; 0,28) |
| 1-ша (к-карагінан) | 0,52 (0,51; 0,54) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ | 0,66 (0,64; 0,68) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ | 0,34 (0,31; 0,36) $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$ |
| 2-га (натрію глутамат) | 0,59 (0,58; 0,61) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ | 0,93 (0,85; 0,95) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ | 0,38 (0,34; 0,40) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ |
| 3-тя (к-карагінан+натрію глутамат) | 0,84 (0,78; 0,87) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$ | 1,06 (0,98; 1,09) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$ | 0,44 (0,41; 0,47) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$ |

Примітка. Тут і в таблицях 2–4: p_1 – зміни вірогідні відносно показників контрольних тварин; p_2 – вірогідність змін між 1-ю і 2-ю групами; p_3 – вірогідність змін між 2-ю і 3-ю групами; p_4 – вірогідність змін між 1-ю і 3-ю групами.

Таблиця 2 – Показники спонтанної окиснювальної модифікації протеїнів у сироватці крові щурів за рівнем кетондинітрофенілгідразонів нейтрального характеру (ум. од./г протеїну) при комбінованій дії харчових добавок

| Група тварин | Кров | Легені | Печінка |
|------------------------------------|--|--|--|
| Контроль | 0,91 (0,88; 0,95) | 1,39 (1,34; 1,43) | 0,48 (0,45; 0,51) |
| 1-ша (к-карагінан) | 1,17 (1,11; 1,21) $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$ | 1,52 (1,48; 1,57) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ | 0,58 (0,55; 0,61) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ |
| 2-га (натрію глутамат) | 1,11 (1,08; 1,15) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ | 1,90 (1,87; 1,95) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ | 0,71 (0,68; 0,75) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ |
| 3-тя (к-карагінан+натрію глутамат) | 1,76 (1,69; 1,78) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$ | 2,69 (2,60; 2,72) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$ | 0,83 (0,76; 0,93) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$ |

пичення окиснених протеїнів було проаналізовано окремо частку альдегідів і кетонів у сумарній ОМП [16]. Встановлено, що у сироватці крові частка первинних і вторинних маркерів дослідних груп практично не відрізнялася від співвідношення в контрольній групі (рис. 1). Варто зазначити, що значення частки вторинних маркерів було більшим у 2-й групі стосовно 1-ї.

У тканинах легень при введенні експериментальним тваринам натрій глутамату змінювалося співвідношення АДНФГ до КДНФГ у бік зростання частки вторинних маркерів окисдативного стресу, тоді як в інших дослідних групах їх співвідношення практично не відрізнялося від контролю (рис. 2).

У тканинах печінки частка первинних і вторинних маркерів дослідних груп практично не відрізнялася від співвідношення в контрольній групі (рис. 3).

Аналіз співвідношення первинних і вторинних маркерів окиснювальної модифікації протеїнів вказує на зростання маркерів пізньої деструкції в тканинах легень при застосуванні натрій глутамату. Нижча частка вторинних маркерів у сироватці крові при введенні к-карагінану, стосовно групи тварин, яким вводили натрій глутамат, може свідчити про швидшу утилізацію змінених протеїнів, так званий вторинний антиоксидантний ефект.

Стимульоване окиснення на даний час розглядають як посттранскрипційну окиснювальну модифікацію протеїнів [17], що виявляє зміни амінокислот, які входять до складу поліпептидного ланцюга, та модифікації, пов'язані з конформацією молекули і станом протеїнового оточення [18]. Необхідність вивчення спонтанної та індукованої іонами металів ОМП також дозволяє провести непряме оцінювання антиокси-

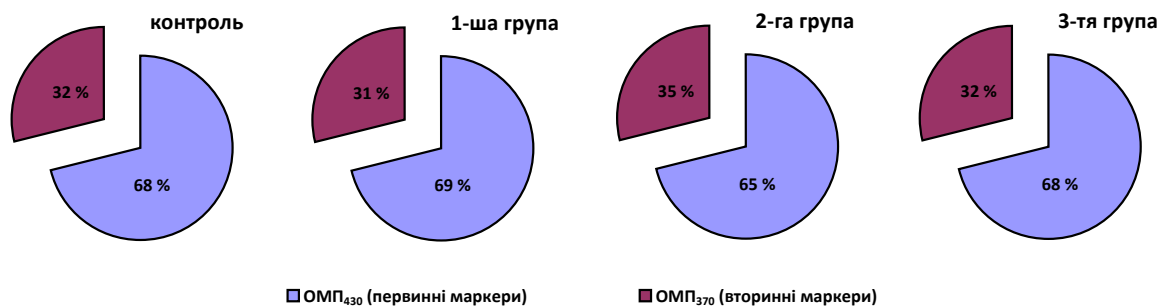


Рис. 1. Частка первинних і вторинних маркерів окиснювальної модифікації протеїнів у сироватці крові щурів при комбінованій дії харчових добавок.

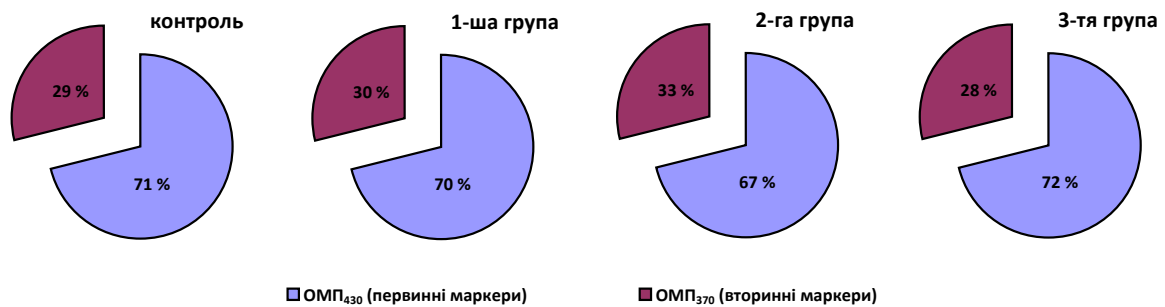


Рис. 2. Частка первинних і вторинних маркерів окиснювальної модифікації протеїнів у легенях щурів при комбінованій дії харчових добавок.

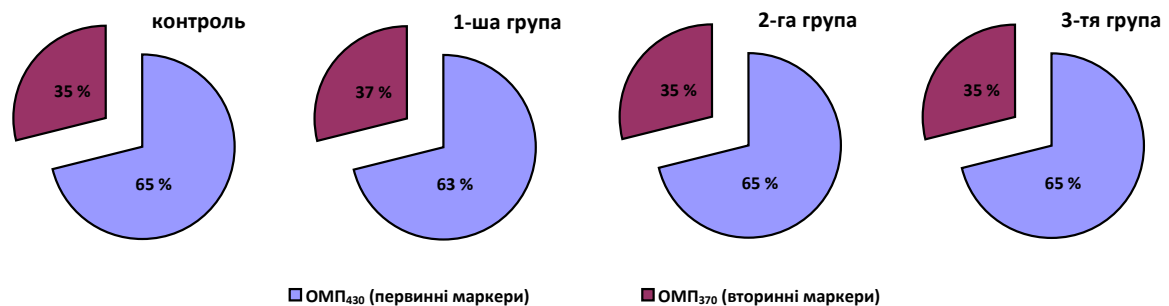


Рис. 3. Частка первинних і вторинних маркерів окиснювальної модифікації протеїнів у печінці щурів при комбінованій дії харчових добавок.

дантних можливостей протеїнів за допомогою РАП [19].

При оцінюванні стимульованої ОМП встановлено вірогідно вищі значення АДНФГ у всіх дослідних групах у сироватці крові, легенях і печінці відносно контролю. При цьому в сироватці крові рівень АДНФГ у 3-й групі вірогідно був вищим від даних 1-ї групи та практично не відрізнявся в 2-й і 3-й групах; у легенях у 1-й та 3-й групах він статистично значимо не відрізнявся, проте був більшим від даних 2-ї групи, тоді як у печінці найвище значення досліджуваного показника зареєстровано в 1-й групі (табл. 3).

У сироватці крові, легенях та печінці рівень КДНФГ був вірогідно більшим у всіх дослідних групах стосовно контролю. Порівнюючи дослідні групи між собою, встановили вірогідно вище значення досліджуваного показника в 1-й групі щодо практично однакових значень у 2-й і 3-й групах (табл. 4).

Для оцінки РАП у тканинах організму щурів визначали частку спонтанної ОМП у стимульованій ОМП, яку брали за 100 %. Установлено, що в контрольній групі частка спонтанної ОМП:РАП становила у сироватці крові 54,7:45,3 (%), у легенях – 56,5:43,5 (%) та в печінці – 50,5:49,5 (%). За умови введення тваринам 1,0 % розчину к-карагінану резервно-адаптаційний потенціал зростав у легенях (на 4,7 %) і печінці (на 19,6 %) стосовно контролю. При введенні щурам натрій глутамату він знижувався в усіх досліджуваних тканинах щодо контролю, зокрема, в сироватці крові – на 4,8 %, у легенях – на 17,4 % і в печінці – на 15,2 %. Комбінована дія харчових добавок зумовлювала максимальне виснаження РАП у всіх досліджуваних тканинах: у сироватці крові – на 33,4 %, у легенях – на 32,9 % і в печінці – на 24,0 % (рис. 4). Отже, за умови комбінованої дії харчових добавок підвищення окиснювального стресу супроводжується виснаженням резерв-

Таблиця 3 – Показники стимульованої окиснювальної модифікації протеїнів у сироватці крові щурів за рівнем альдегіднітрофенілгідразонів основного характеру (ум. од./г протеїну) при комбінованій дії харчових добавок

| Група тварин | Кров | Легені | Печінка |
|------------------------------------|--|--|--|
| Контроль | 0,94 (0,89; 0,95) | 1,15 (1,09; 1,19) | 0,69 (0,66; 0,71) |
| 1-ша (к-карагінан) | 1,02 (0,96; 1,05) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ | 1,29 (1,24; 1,31) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ | 1,08 (1,00; 1,12) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ |
| 2-га (натрію глутамат) | 1,16 (1,14; 1,25) $p_1 < 0,05$ $p_3 > 0,05$ | 1,22 (1,18; 1,27) $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ | 0,78 (0,75; 0,81) $p_1 < 0,05$ $p_3 > 0,05$ |
| 3-тя (к-карагінан+натрію глутамат) | 1,19 (0,99; 1,09) $p_1 < 0,05$ $p_4 > 0,05$ | 1,29 (1,24; 1,31) $p_1 < 0,05$ $p_4 > 0,05$ | 0,77 (0,75; 0,78) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$ |

Таблиця 4 – Показники стимульованої окиснювальної модифікації протеїнів у сироватці крові щурів за рівнем кетондинітрофенілгідразонів нейтрального характеру (ум. од./г протеїну) при комбінованій дії харчових добавок

| Група тварин | Кров | Легені | Печінка |
|------------------------------------|--|--|--|
| Контроль | 1,52 (1,48; 1,58) | 2,37 (2,24; 2,44) | 0,78 (0,75; 0,86) |
| 1-ша (к-карагінан) | 1,93 (1,88; 1,97) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ | 2,88 (2,80; 2,92) $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ | 1,37 (1,33; 1,42) $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$ |
| 2-га (натрію глутамат) | 1,70 (1,67; 1,75) $p_1 < 0,05$ $p_3 > 0,05$ | 2,57 (2,54; 2,59) $p_1 < 0,05$ $p_3 > 0,05$ | 0,89 (0,85; 0,95) $p_1 < 0,05$ $p_3 > 0,05$ |
| 3-тя (к-карагінан+натрію глутамат) | 1,73 (1,67; 1,75) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$ | 2,62 (2,58; 2,65) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$ | 0,91 (0,88; 0,94) $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$ |

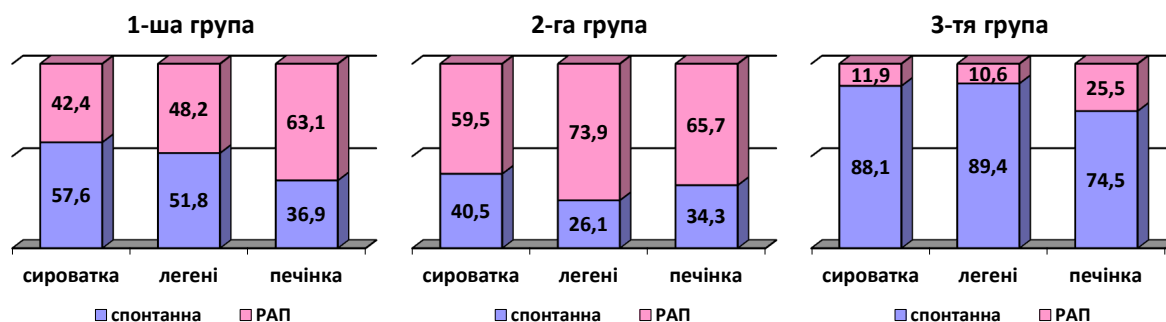


Рис. 4. Оцінка резервно-адаптаційного потенціалу в тканинах організму щурів при комбінованій дії харчових добавок (%).

но-адаптаційного потенціалу в крові, легенях і печінці.

За даними інших авторів, споживання щурами 1,0 % розчину к-карагінану зумовлювало зростання спонтанної ОМП, при цьому вони також припускали виснаження резервно-адаптаційних можливостей організму тварин [20, 21]. Проте дослідження спонтанної і стимульованої ОМП, яке ми провели, дозволяє об'єктивніше оцінити РАП. Дослідження вченими особливостей ОМП при дії натрій глутамату підтверджує наші дані щодо більш вираженого зростання ОМП на різних довжинах хвиль з розвитком карбонільного стресу [22]. Виявлене посилення окиснювальної деструкції протеїнових молекул з виснаженням резервно-адаптаційного потен-

ціалу в крові, легенях і печінці щурів за умови комбінованої дії харчових добавок свідчить про порушення механізмів регуляції ензимних систем, які забезпечують клітинний гомеостаз, оскільки відомо, що при оксидативному стресі активні форми кисню впливають передусім на протеїни плазматичних мембран, що призводить до вираженої гістодеструкції [23, 24].

ВИСНОВОК. За умови комбінованої дії розчинів к-карагінану і натрій глутамату вірогідно підвищується спонтанна окиснювальна модифікація протеїнів стосовно контролю та окремої дії харчових добавок, що супроводжується виснаженням резервно-адаптаційного потенціалу в крові, легенях і печінці, відповідно, на 33,4, 32,9 та 24,0 %.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Kukk M. Risk assessment related to food additives and food processing-derived chemical contaminants exposure for the Portuguese population / M. Kukk, D. Torres // *EFSA Journal*. – 2020. – **18**. – 10 p.
2. Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives / European Union. – Strasburg: 2008.
3. Смоляр В. І. Токсичні ефекти харчових добавок / В. І. Смоляр // *Проблеми харчування*. – 2005. – № 1. – С. 5–15.
4. https://zakononline.com.ua/documents/show/198223_570498
5. Про Національний план дій на 2013 рік щодо впровадження Програми економічних реформ на 2010–2014 роки "Заможне суспільство, конкурентоспроможна економіка, ефективна держава": Указ Президента України від 12.03.2013 р. № 128/2013 / Верховна Рада України.
6. Commission Regulation (EU) No 257/2010 of 25 March 2010 setting up a programme for the re-evaluation of approved food additives in accordance with Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council on food additives / European Union. – Strasburg: 2010.
7. Кошкалда І. В. Актуальні питання продовольчого забезпечення / І. В. Кошкалда // *Вісн. Сумського національного аграрного університету. Серія "Економіка і менеджмент"*. – 2017. – № 4 (71). – С. 207–212.
8. Пат. 97322 Україна, МПК G09B 23/28. Спосіб моделювання хронічного гастроентероколіту / Іваненко Т. О., Коробчанський В. О., Губіна-Вакулик Г. І., Горбач Т. В., Колоусова Н. Г. – № a201014510; заявл. 06.12.2010; опубл. 25.01.2012, Бюл. № 2.
9. Moyana T. N. Carrageenan-induced intestinal injury in the rat – a model for inflammatory bowel disease / T. N. Moyana, J. M. Lalonde // *Ann. Clin. Lab. Sci.* – 1990. – **20**, 6. – Р. 420–426.
10. Влияние глипролинов на структурно-функциональное состояние слизистой оболочки желудка и массу тела крыс в условиях длительного введения глутамата натрия / Т. М. Фалалеева, Г. Е. Самонина, Т. В. Береговая [и др.] // *Фізика живого*. – 2010. – **18**, № 1. – С. 154–159.
11. Досвядчинська М. Р. Пероксидне окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ензимів у клітинах легень щурів за щодобового введення афлатоксину В1 / М. Р. Досвядчинська, Г. Л. Антоняк // *Біологія тварин*. – 2012. – **14**, № 1–2. – С. 108–112.

12. Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами (депрессия, деперсонализация) / Е. Е. Дубинина, М. Г. Морозова, Н. В. Леонова [и др.] // *Вопр. мед. химии.* – 2000. – **46**, № 4. – С. 398–409.

13. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. H. Lowery, N. I. Rosebrough, A. L. Farr, R. I. Randall // *J. Biol. Chem.* – 1951. – **193** (1). – P. 265–275.

14. Jones L. A. Spectrophotometric studies of some 2,4-dinitrophenylhydrazones / L. A. Jones, J. C. Holmes, R. B. Seligman // *Analytical Chemistry.* – 1956. – **28**, No. 2. – P. 191–198.

15. Шевелькова А. А. Окислительная модификация белков и содержание тиолов в крови при физиологически протекающей беременности / А. А. Шевелькова, А. В. Вьюшина // *Журн. акушерства и женских болезней.* – 2012. – **61**, № 4. – С. 109–112.

16. Губский Ю. И. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях (обзор литературы) / Ю. И. Губский // *Современные проблемы токсикологии.* – 2005. – **8**, № 3. – С. 20–27.

17. Дубинина Е. Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты / Е. Е. Дубинина. – СПб. : Медицинская пресса, 2006. – С. 400.

18. Ведунова М. В. Влияние низких терапевтических доз озона на уровень окислительной модификации белков / М. В. Ведунова, А. И. Сазанов, К. Н. Контрор-

щикова // *Вестн. Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского.* – 2010. – № 2. – С. 504–507.

19. Ergin, V. Carbonyl stress in aging process: Role of vitamins and phytochemicals as redox regulators / V. Ergin, R. E. Hariry, Ç. Karasu // *Aging and Disease.* – 2013. – **4**, No. 5. – P. 279–294.

20. Мялюк О. П. Стан вільнорадикального окиснення у тканинах печінки експериментальних щурів при аліментарному ожирінні / О. П. Мялюк // *Вісн. проблем біології і медицини.* – 2015. – Вип. 4 (1). – С. 120–123.

21. Krynytska I. The indices of endogenous intoxication in rats with carrageenan solution consumption / I. Krynytska, M. Marushchak, O. Svan [et al.] // *Georgian Medical News.* – **279**. – P. 196–200.

22. Krynytska I. Gender-specific differences of oxidative processes in the population of circulating neutrophils of rats in a setting of prolonged administration of monosodium glutamate / Inna Krynytska, Mariya Marushchak, Anastasiia Rutska // *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases.* – 2019. – **26**, No 2. – P. 119–127.

23. Зинь А. Окисна модифікація білків у зародках в'юна MISGURNUS FOSSILIS L. упродовж ембріогенезу за дії гіпохлориту натрію / А. Зинь, Н. Головач, Д. Санагурський // *Вісн. Львівського університету. Серія біологічна.* – 2013. – Вип. 61. – С. 11–19.

24. Марущак М. І. Роль активних форм кисню у розвитку і прогресуванні гострого ураження легень в експерименті / М. І. Марущак // *Мед. хімія.* – 2012. – **14**, № 1 (50). – С. 104–108.

REFERENCES

1. Kukk, M., & Torres, D. (2020). Risk assessment related to food additives and food processing-derived chemical contaminants exposure for the Portuguese population. University of Porto, Faculty of Nutrition and Food Sciences. *EFSA Journal*, 18 (1), 10 .

2. (2008). Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on food additives. *European Union*.

3. Smolyar, V.I. (2005). Toksychni efekty kharchovykh dobavok [Toxic effects of food additives]. *Problemy kharchuvannya – Nutrition Problems*, 1, 5-15 [in Ukrainian].

4. https://zakononline.com.ua/documents/show/198223__570498

5. Pro Natsionalnyi plan dii na 2013 rik shchodo vprovadzhennia Prohramy ekonomichnykh reform na 2010-2014 roky "Zamozhne suspilstvo konkurentno-spromozhna ekonomika, efektyvna derzhava" [On the National Action Plan for 2013 on the implementation of the Program of economic reforms for 2010-2014 "Wealthy society, competitive economy, efficient state"]. *Ukaz Prezidenta Ukrainy – Decree of the President of Ukraine*, March 12, 2013 No. 128 [in Ukrainian].

6. (2010). Commission Regulation (EU) No 257/2010 of 25.03.2010 setting up a programme for the re-evaluation of approved food additives in accordance with Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council on food additives. *European Union*.

7. Koshkalda, I.V. (2017). Aktualni pytannia prodovolchoho zabezpechennia [Current issues of food

supply]. *Visnyk Sums'koho natsionalnoho ahrarnoho universytetu. Seriya "Ekonomika i menedzhment" – Bulletin of Sumy National Agrarian University. Series "Economics and Management"*, 4 (71), 207-212 [in Ukrainian].

8. Ivanenko, T.O., Korobchansky, V.O., Hubina-Vakulyk, H.I., Horbach, T.V., & Kolusova, N.H. *Sposib modelivania khronichnoho hastroenterokolitu [Method of modeling chronic gastroenterocolitis]*. Pat. 97322 Ukraine, MPK G09B 23/28. № a201014510, stat. 06.12.2010, publish. 25.01.2012, 2 [in Ukrainian].

9. Moyana, T.N., & Lalonde, J.M. (1990). Carrageenan-induced intestinal injury in the rat – a model for inflammatory bowel disease. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 20, 6, 420-426.

10. Falaleeva, T.M., Samonina, H.E., & Berehovaya, T.V. (2010). Vliyanie gliptrolinov na strukturno-funktsionalnoe sostoyanie slizistoy obolochki zheludka i massy tella krysa v usloviyakh dlitel'nogo vvedeniya glutamata natriya [Influence of gliptrolines on the structural and functional state of the gastric mucosa and body weight of rats under conditions of prolonged administration of sodium glutamate]. *Fizika zhivogo – Physics of the Living*, 18,1, 154-159 [in Russian].

11. Dosvyadchynska, M.R., & Antoniak, H.L. (2012). Peroksydne okysnennia lipidiv ta aktyvnyst antyoksydantnykh enzymiv u klitynakh lehen shchuriv za shchodovoho vvedennia aflatoksynu B1 [Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in rat lung cells with daily administration of aflatoxin B1]. *Biolohiia tvaryn – Animal Biology*, 14, 1-2, 108-112 [in Ukrainian].

12. Dubinina, E.E. (2000). Okislitel'naya modifikatsiya belkov plazmy krovi bolnykh psikhicheskimi rasstroystvami (depresiya, depersonalizatsiya) [Oxidative modification of blood plasma proteins in patients with mental disorders (depression, depersonalization)]. *Voprosy meditsinskoj khimii – Issues of Medical Chemistry*, 46, 4, 398-409 [in Russian].
13. Lowery, O.H., Rosebrough, N.I., Farr, A.L., & Randall, R.I. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193 (1), 265-275.
14. Jones, L.A., & Holmes, R.B. (1956). Spectrophotometric studies of some 2,4-dinitrophenylhydrazones. *Analytical Chemistry*, 28, 2, 191-198.
15. Shevelkova, A.A., & Vjushina, A.V. (2012). Okislitel'naya modifikatsiya belkov i sodержание tiolov v krovi pri fiziologicheskij protokayushchey beremennosti [Oxidative modification of proteins and the content of thiols in the blood during physiological pregnancy]. *Zhurnal akusherstva i zhenskikh bolezney – Journal of Obstetrics and Women's Diseases*, 1 (4), 109-112 [in Russian].
16. Gubskij, Ju.I. (2005). Toksikologicheskie posledstviya oksidatel'noj modifikatsii belkov pri razlichnykh patologicheskikh sostoyaniyakh [Toxicological consequences of oxidative modification of proteins in various pathological conditions]. *Sovremennye problemy toksikologii – Modern Problems of Toxicology*, 8, 3, 20-27 [in Russian].
17. Dubinina, E.E. (2006). *Produkty metabolizma kisloroda v funktsionalnoj aktivnosti kletok (zhizn i smert, sozidanie i razrushenie). Fiziologicheskije i kliniko-biohimicheskie aspekty [Oxygen metabolism products in the functional activity of cells (life and death, creation and destruction). Physiological and clinical-biochemical aspects]*. St. Petersburg: Meditsinskaya pressa [in Russian].
18. Vedunova, M.V., Sazanov, A.I., Kontorshhikova, K.N. (2010). Vliyaniye nizkikh terapevticheskikh doz ozona na uroven okislitel'noj modifikatsii belkov [Effect of low therapeutic ozone doses on the level of oxidative modification of proteins]. *Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo – Bulletin of the Nizhny Novgorod University by N.I. Lobachevsky*, 2, 504-507 [in Russian].
19. Ergin, V., Hariry, R.E., & Karasu, Ç. (2013). Carbonyl stress in aging process: Role of vitamins and phytochemicals as redox regulators. *Aging and Disease*, 4, 5, 279-294.
20. Mjalyuk, O.P. (2015). Stan vilnoradykalnoho oksyennennia u tkanyakh pechinky eksperymentalnykh shchuriv pry alimentarnomu ozhyrinni [The state of free radical oxidation in the liver tissues of experimental rats in alimentary obesity]. *Bulletin of problems of biology and medicine*. *Visnyk problem biologii i medytsyny – Bulletin of Problems of Biology and Medicine*, 4, 1 (124), 120-123 [in Ukrainian].
21. Krynytska, I., Marushchak, M., Svan, O., Akimova, V., Mazur, L., & Habor, H. The indices of endogenous intoxication in rats with carrageenan solution consumption. *Georgian Medical News* (279), 196-200.
22. Krynytska, I., Marushchak, M., & Rutska, A. (2019). Gender-specific differences of oxidative processes in the population of circulating neutrophils of rats in a setting of prolonged administration of monosodium glutamate. *Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases*, 26, 2, 119-127.
23. Zyn, A., Holovchak, N., & Sanhurskyi, D. (2012). Okysna modyfikatsiia bilkiv u zarodkakh viuna MISGURNUS FOSSILIS L. Uprodovzh embriohezu za dii hipokhlorytu natriiu [Oxidative modification of proteins in embryos of MISGURNUS FOSSILIS L. during embryogenesis under the action of sodium hypochlorite]. *Visnyk Lvivskoho universytetu. Seriya biologichna – Bulletin of Lviv University. Biological Series*, 61, 11-19 [in Ukrainian].
24. Marushchak, M. (2013). Rol aktyvnykh form kysniu u rozvytku i prohresuvanni hostroho urazhennia lehen v eksperymenti [The role of reactive oxygen species in the development and progression of acute lung injury in the experiment]. *Medychna khimiia – Medical Chemistry*, 14, 1, 104-108 [in Ukrainian].

П. И. Бучко, М. И. Марущак

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО
МОЗ УКРАИНЫ

ОСОБЕННОСТИ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ ПРОТЕИНОВ ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ДЕЙСТВИИ ПИЩЕВЫХ ДОБАВОК

Резюме

Вступление. Сокращение продолжительности жизни населения Украины, резкое снижение качества жизни и индекса здоровья нации при значительном нарушении пищевого статуса определяют необходимость поднятия вопросов относительно качества пищевой продукции, в том числе и неконтролируемого использования пищевых добавок, поэтому данное исследование является актуальным.

Цель исследования – оценить показатели окислительной модификации протеинов в тканях организма крыс при применении растворов к-каррагинана, натрия глутамата и их комбинированном действии.

Методы исследования. Исследование проведено на 48 белых нелинейных крысах-самцах, которых разделили на 4 группы: 1-я – контроль (интактные животные); 2-я – животные, которым внутривенно вводили к-каррагинан в дозе 40 мг/кг в течение 1 месяца; 3-я – животные, которым внутривенно вводили натрий глутамат в дозе 50 мг/кг; 4-я – животные, которым внутривенно вводили к-каррагинан и натрий глутамат в вышеуказанных дозах. Для оценки спонтанной окислительной модификации протеинов (ОМП) спектрофотометрически в ультрафиолетовой части спектра на длине волны 370 нм определяли кетондинитрофенилгидразоны нейтрального характера (КДНФГ) и в области видимого света 430 нм – альдегиддинитрофенилгидразоны основного характера (АДНФГ). С целью оценки

стимулированной ОМП предварительно добавляли к опытной и контрольной пробам по 0,1 мл приготовленных ex tempore 410^{-3} М FeSO₄, 110^{-3} М ЭДТА, 310^{-4} М H₂O₂.

Результаты и обсуждение. В сыворотке крови доля первичных (АДНФГ) и вторичных (КДНФГ) маркеров исследовательских групп практически не отличалась от соотношения в контрольной группе. В тканях легких при введении экспериментальным животным натрий глутамата менялось соотношение АДНФГ к КДНФГ в сторону увеличения доли вторичных маркеров окислительного стресса, тогда как в других исследовательских группах их соотношение практически не отличалось от контроля. В тканях печени доля первичных и вторичных маркеров исследовательских групп практически не отличалась от соотношения в контрольной группе. Анализ соотношения первичных и вторичных маркеров ОМП указывает на увеличение доли маркеров поздней деструкции в тканях легких при применении натрий глутамата. Меньшая доля вторичных маркеров в сыворотке крови при введении κ-каррагинана, в отношении группы животных, которым вводили натрий глутамат, может свидетельствовать о более быстрой утилизации измененных протеинов, так называемом вторичном антиоксидантном эффекте.

Вывод. При комбинированном действии растворов κ-каррагинана и натрий глутамата достоверно повышается спонтанная окислительная модификация протеинов относительно контроля и отдельного действия пищевых добавок, что сопровождается истощением резервно-адаптационного потенциала в крови, легких и печени, соответственно, на 33,4, 32,9 и 24,0 %.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пищевые добавки; окислительная модификация протеинов; кровь; печень; легкие; эффект.

P. I. Buchko, M. I. Marushchak

I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

SPECIFIC FEATURES OF PROTEINS OXIDATIVE MODIFICATION IN THE COMBINED ACTION OF FOOD ADDITIVES

Summary

Introduction. A decrease in the life expectancy of the population of Ukraine, a sharp decrease in the quality of life and the health index of the nation with a significant violation of the nutritional status predetermines the need to raise issues of food quality, including the uncontrolled use of food additives, which determines the relevance of this study.

The aim of the study – to evaluate the indicators of oxidative modification of proteins in the tissues of the rat body when using a solution of κ-carrageenan, sodium glutamate and their combined action.

Research Methods. The study was carried out on 48 white nonlinear male rats, which were divided into 4 groups: 1 – control (intact animals), 2 – animals that were intragastrically injected with κ-carrageenan at a dose of 40 mg/kg for 1 month, 3 – animals, which intragastrically injected sodium glutamate at a dose of 50 mg/kg for 1 month, 4 – animals that were intragastrically injected with carrageenan and sodium glutamate in the above doses. To assess the spontaneous oxidative modification of proteins (OMP) spectrophotometrically in the ultraviolet part of the spectrum at a wavelength of 370 nm, neutral ketone dinitrophenylhydrazones (CDNPH) and in the visible light region – 430 nm, aldehyde dinitrophenylhydrazones of the basic nature (ADNPH) were determined. To assess the stimulated OMP 0.1 ml of prepared ex tempore 410^{-3} М FeSO₄, 110^{-3} М EDTA, 310^{-4} М H₂O₂ was previously added to the experimental and control samples.

Results and Discussion. It was found that the proportion of primary (ADNPH) and secondary (CDNPH) markers in the blood serum did not practically differ from the ratio in the control group. In the lung tissues, when sodium glutamate was administered to experimental animals, the ratio of ADNPH to CDNPH changed towards an increase in the proportion of secondary markers of oxidative stress, while in other study groups their ratio practically did not differ from the control. In liver tissues, the proportion of primary and secondary markers in the experimental groups did not practically differ from the ratio in the control group. Analysis of the ratio of primary and secondary markers of oxidative modification of proteins indicates an increase in markers of late destruction in lung tissues with the use of sodium glutamate. The reduced proportion of secondary markers in the blood serum upon administration of carrageenan in relation to the group of animals that were injected with sodium glutamate may indicate a faster utilization of the altered proteins, the so-called secondary antioxidant effect.

Conclusions. In the combined action of solutions of κ-carrageenan and sodium glutamate, spontaneous oxidative modification of proteins significantly increases relative to the control and individual action of food additives, which is accompanied by depletion of reserve-adaptive potential in the blood, lungs and liver, respectively, by 33.4 %, 32.9 % and 24.0 %.

KEY WORDS: food additives; oxidative modification of proteins; blood; liver; lungs; effect.

Отримано 09.11.20

Адреса для листування: М. І. Марущак, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: marushchak@tdmu.edu.ua.